

AYKUT KURT

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2022



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**DENTAL HASTA PROTEZLERİNDE HELICOBACTER
PYLORI VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI VE PROTEZ
MATERYALLERİNDE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN
İNCELENMESİ**

AYKUT KURT

**DANIŞMAN
PROF. DR. BETİGÜL ÖNGEN**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2022

İTHAF

Gazi Mustafa Kemal Atatürk'e ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun seçiminden, planlanışına, deney sürecinden sonuçların değerlendirilmesine kadar bilgi birikimini benimle paylaşan, doktora eğitimim süresince benden destek ve teşviklerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Betigül Öngen'e,

İstanbul Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali Ağaçfıdan'a, bölümümüzün değerli öğretim üyeleri Prof. Dr. Meltem Uzun, Prof. Dr. Zayre Ertuğran, Prof. Dr. Dilek Şatana, Doç. Dr. Yaşar Nakipoğlu, Doç. Dr. Hayriye Kırkoyun Uysal, Doç. Dr. Gonca Erköse Genç, Öğr. Gör. Uzm. Dr. Bahar Akgün Karapınar, Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Önel'e,

Yüksek lisans eğitimimden bu yana yetişmemde çok emekleri geçen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Nevriye Gönüllü, Prof. Dr. Hrisi Bahar Tokman, Prof. Dr. Bekir S. Kocazeybek, Prof. Dr. Gökhan Aygün, Prof. Dr. Sevgi Ergin, Doç. Dr. Erdal Polat ve Doç. Dr. A. Suat Sarıbaş'a,

Doktora eğitimim boyunca bilgilerinden faydalanma fırsatı bulduğum emekli hocalarım Prof. Dr. Selim Badur, Prof. Dr. Şadi Yenen'e,

Doktora tezimde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Betül Tuncelli, Doç. Dr. Özlem Kara'ya,

Doktora eğitimim süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Cihan Yeşiloğlu, PhD. Fatma Kalaycı, Msc. Özge Yılmazlı, Msc. Neslihan Cihanoğlu, Uzm. Dr. Onur Tosun, PhD. Dr. Osman Köksal, Uzm. Dr. Aynur Veliyeva, Uzm. Dr. Gözde Öztürk Altınyurt, Dr. Aygün Mehdiyeva, PhD. Dr. Kutay Sarsar, Biyo. Kenan Akbulut, Biyo. Öner Kipritçi, Muazzez Uyar, Mukaddes Ünsal'a,

Bana olan destekleri ile her zaman yanımda hissettiğim, kıymetli yol arkadaşlarım Taha Yüksek, Msc. Ezgi Gözün Şaylan, Hamza Ari, PhD. Harika Öykü Dinç, PhD. Zeynep Güngördü Dalar, Msc. Okan Aydoğan, Msc. Yağmur Eylül Doğantürk, Ecz Nergis İmamova, Msc. Esra Bakır Demir, Ecz. Sefa Sönmez, Ecz. Diren Ergin, Ecz. Arkan Yashar Ezzulddin Barbar, Ecz. Mohammed Zeyad Mohammed Kalayı'ya,

Bugüne kadar akademik alanda ilerlememi sonsuz sabır ve sevgi ile koşulsuz destekleyen kıymetli anneme, babama, abime ve eşine, PhD. Zeynep Taner'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29685

İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. <i>H. pylori</i> 'nin Özellikleri.....	5
2.2.1. Sınıflandırma.....	5
2.2.2. Mikrobiyolojik Özellikler.....	6
2.2.3. Virülans Faktörleri ve Patogenez.....	7
2.2.3.1. Biyofilm Oluşturma.....	10
2.3. Epidemiyoloji.....	11
2.3.1. Bulaşma Yolları.....	11
2.3.2. Dünyada ve Türkiye'de <i>H. pylori</i> Prevalansı.....	12
2.4. <i>H. pylori</i> 'nin Spesifik Hastalıklarla İlişkisi.....	14
2.4.1. Kronik Gastrit.....	15
2.4.2. Peptik Ülser.....	16
2.4.3. Gastrik Adenokarsinom ve <i>H. pylori</i> ilişkisi.....	17
2.4.4. Mukoza ile İlişkili Lenfoid Doku Lenfoması (MALT) ve <i>H. pylori</i> İlişkisi.....	17
2.4.5. <i>H. pylori</i> 'nin Diğer Hastalıklarla İlişkisi.....	18
2.5. Tanı.....	18
2.5.1. Üreaz Aktivite Testi.....	18
2.5.2. <i>H. pylori</i> Kültürü.....	19
2.5.3. Histoloji.....	19

2.5.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	20
2.5.5. Seroloji.....	20
2.5.6. Üre-Nefes Testi.....	21
2.5.7. Dışkıda Antijen Testi.....	21
2.6. Tedavi.....	22
2.6.1. Antimikrobiyal Ajanlar.....	22
2.6.2. Antisekretuar ajanlar.....	23
2.6.3. Probiyotikler.....	24
2.7. Korunma ve Aşı.....	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. Çalışma Grubu.....	25
3.2. Gereçler.....	25
3.2.1. PCR Deneyi Gereçleri.....	25
3.2.1.1. Örneklerin Toplanması için Kullanılan Gereçler.....	25
3.2.1.2. DNA İzolasyon Kiti.....	25
3.2.1.3. Real-time PCR Kiti.....	26
3.2.1.4. PCR Cihazı.....	26
3.2.1.5. Mikrosantrifüj Cihazı.....	26
3.2.2. Biyofilm Deneyi Gereçleri.....	27
3.2.2.1. Besiyerleri.....	27
3.2.2.2. Kontrol Suş.....	28
3.2.2.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi Gereçleri.....	28
3.3. Yöntemler.....	29
3.3.1. Dental Protezlerde Real-time PCR Yöntemi ile <i>H. pylori</i> Araştırılması.....	29
3.3.1.1. Dental Protezlerden Örnek Alımı ve Homojenizasyonu.....	29
3.3.1.2. Ekstraksiyon.....	29
3.3.1.3. Ön Muamele Protokolü.....	30
3.3.1.4. DNA Ekstraksiyon Protokolü.....	30
3.3.1.5. Real-time PCR.....	31
3.3.1.6. Döngü Aşamaları.....	32
3.3.1.7. Geçersiz Sonuç Prosedürü.....	32
3.3.1.8. Veri Analizi.....	33

3.3.1.9. İstatiksel Analiz.....	33
3.3.2. Biyofilm Çalışması	34
3.3.2.1. Kontrol Suşunun Üretilmesi.....	34
3.3.2.2. Kupon Parça Hazırlıkları.....	34
3.3.2.3. Kupon Parçalarının Sterilizasyonu.....	34
3.3.2.4. Kupon Parçalarının Doku Kültür Plaklarına Yerleştirilmesi	35
3.3.2.5. Kupon Parçalarının Fiksasyonu	35
3.3.2.6. Kupon Parçaların Kaplanması.....	35
3.3.2.7. Taramalı Elektron Mikroskopi Görüntülerinde Skorlama	35
4. BULGULAR.....	37
4.1. Hastalara Ait Özellikler	37
4.2. Real-time PCR Sonuçları	38
4.3. Biyofilm Çalışması Sonuçları	40
4.3.1. Dental Protez Baz Materyallerinde Taramalı Elektron Mikroskopi Sonuçları.....	41
4.3.1.1. Krom-Kobalt	41
4.3.1.2. Krom-Nikel	42
4.3.1.3. Zirkonyum.....	43
4.3.1.4. Titanyum	44
4.3.1.5. Dental Seramik.....	45
4.3.1.6. Akrilik	46
4.3.1.7. Polistren.....	47
5. TARTIŞMA	48
6. KAYNAKLAR	57
7. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	70

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Eşik ve başlangıç için önerilen değerler.....	31
Tablo 2: PCR döngü aşamaları.	32
Tablo 3: Geçersiz sonuç prosedürü reaksiyonları.....	33
Tablo 4: SEM sonuçları için kullanılan skorlama.	36
Tablo 5: Çalışmaya katılan hastalara ait özellikler (n:200).	37
Tablo 6: PCR pozitif hastaların özellikleri.	39
Tablo 7: Çalışmaya dahil edilen maddelerin taramalı elektron mikroskopi sonuçları.....	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: ATCC 43504 <i>Helicobacter pylori</i> 16S rRNA gen dizisi.....	26
Şekil 2: FEI Quanta FEG 250 ESEM elektron mikroskobu.	29
Şekil 3: Real-time PCR ile <i>H. pylori</i> saptanan örneklerle ait eğriler.....	38
Şekil 4: Krom-Kobalt maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	41
Şekil 5: Krom-Kobalt maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	41
Şekil 6: Krom-Nikel maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	42
Şekil 7: Krom-Nikel maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	42
Şekil 8: Zirkonyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.	43
Şekil 9: Zirkonyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.	43
Şekil 10: Titanyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	44
Şekil 11: Titanyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	44
Şekil 12: Dental seramik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	45
Şekil 13: Dental seramik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	45
Şekil 14: Akrilik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	46
Şekil 15: Akrilik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.....	46
Şekil 16: Polistren maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.	47
Şekil 17: Polistren maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.	47

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

ATCC: American Type Culture Collection

atm: Atmosfer basıncı

Cag-PAI: Cag patojenite adası

CFU: Colony forming unit

DNA: Deoksiribonükleik asit

EIA: Enzyme immunoassay

EPS: Ekstraselüler polimer madde

HE: Hematoksilen-eozin

IARC: Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı

ICA: Immunochromatographic assay

IgG: İmmunoglobulin G

IL-8: İnterlökin 8

MALT: Mukoza ile ilişkili lenfoid doku

NCTC: National Collection of Type Cultures

PBP: Penisilin bağlayan protein

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PPI: Proton pompası inhibitörü

PVC: Polivinil klorür

RNA: Ribonükleik asid

rRNA: Ribozomal RNA

SEM: Taramalı elektron mikroskobu

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ÖZET

Kurt, A. (2022). Dental Hasta Protezlerinde *Helicobacter pylori* Varlığının Araştırılması ve Protez Materyallerinde Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD. Doktora Tezi. İstanbul.

Helicobacter pylori dünyada en sık rastlanan enfeksiyon etkenlerinden biridir. *H. pylori* enfeksiyonlarının kronik gastrit, peptik ülser, mide adenokarsinomu ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması gibi çeşitli gastroduodenal hastalıkların gelişmesinde rol oynadığının kesinleşmesi ile birlikte *H. pylori*'yi konu alan çalışmalar önem kazanmıştır. *H. pylori*'nin oral kavitede diş plağında, tükürükteki varlığı ve bu durumun peridontal enfeksiyon, gastrik enfeksiyon, reenfeksiyon ve tedaviye etkisi birçok araştırmacının ilgisini çeken bir konu olmuştur.

Çalışmamızda da oral kavitede *H. pylori* için enfeksiyon/reenfeksiyon açısından kaynak olabilecek tükürük, diş plağı, vb. dışında başka bir niş olabileceği düşünülerek sabit dental protezlerin iç yüzeylerinde *H. pylori* varlığı araştırılmış ayrıca *H. pylori*'nin dental protez materyallerinde biyofilm oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir.

Çalışmamızın ilk aşamasında 200 hastanın dental protezlerinde *H. pylori* varlığı real-time PCR yöntemiyle araştırılmıştır. İkinci aşamada ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) yardımıyla dental protez baz materyallerinden krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum dental seramik ve akrilikte ayrıca polistrende *H. pylori*'nin biyofilm oluşturma potansiyeli incelenmiştir.

Real-time PCR ile 200 hastaya ait protezin 19'u *H. pylori* açısından pozitif bulunmuştur. SEM analizi sonucunda *H. pylori*'nin en yoğun olarak dental seramikte ve daha sonra titanyumda biyofilm oluşturduğu saptanmıştır. Biyofilm oluşumu krom-kobalt, zirkonyum, ve akrilik materyallerinde düşük yoğunlukta, krom nikel materyalinde ise en düşük yoğunlukta gözlenmiştir. Kontrol materyali olarak kullanılan polistrende orta yoğunlukta saptanmıştır.

Elde ettiğimiz sonuçlar oral kavitede tükürük ve diş plağında bulunduğu bildirilen *H. pylori*'nin dental protezlerde de bulunabileceğini ve protezlerin kolonizasyon için uygun bir ortam oluşturabileceğini göstermiştir. Bu nedenle, *H. pylori*'nin dental protezlerin iç yüzeylerinde biyofilm oluşturma potansiyelinin, bakterinin antibiyotik tedavisinden etkilenmeyerek tedavide başarısızlığa/reenfeksiyona yol açabileceği düşünülmüştür.

Dental protezlerle yapılan ilk araştırma niteliğindeki bu çalışmadan elde edilen verilerin, *H. pylori*'nin oral kavitede biyofilm oluşturma potansiyeli, eradikasyonu ve tedaviye direncini araştırarak olan sonraki çalışmalara katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, Real-time PCR, SEM, Dental protez, Reenfeksiyon.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 29685

ABSTRACT

Kurt, A. (2022). Investigation of *Helicobacter pylori* Presence in Dental Prostheses and Investigation of Biofilm Formation in Prosthesis Materials. İstanbul University, Institute of Health Science, Medical Microbiology Department. PhD Thesis. İstanbul.

Helicobacter pylori is one of the most common infectious agent in the world. With the confirmation of *H. pylori*'s role in various gastroduodenal diseases such as chronic gastritis, peptic ulcer, gastric adenocarcinoma, and mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma, studies on *H. pylori* have gained importance. The presence of *H. pylori* in oral cavity, dental plaque, saliva and its effect on periodontal infection, gastric infection, reinfection, and treatment has been a topic of interest to many researchers.

In our study, the presence of *H. pylori* on the inner surfaces of dental prostheses was investigated, considering that there may be another niche other than saliva, dental plaque, etc., which may be a source for infection/reinfection for *H. pylori* in the oral cavity and whether *H. pylori* forms a biofilm in dental prosthesis materials.

In the first stage of our study, we investigated the presence of *H. pylori* in dental prostheses of 200 patients by real-time PCR method. In the second stage, the biofilm-forming potential of *H. pylori* in dental prosthesis base materials such as chrome cobalt, chromium-nickel, zirconium, titanium, dental ceramic, acrylic, and also in polystyrene was investigated with the help of a scanning electron microscope (SEM).

Nineteen prostheses of 200 patients were found to be positive for *H. Pylori* by real-time PCR method. As a result of SEM analysis, it was determined that *H. pylori* formed the highest density biofilm on dental ceramic and titanium was found to be second high. Biofilm formation was observed at low density in chromium-cobalt, zirconium, and acrylic materials, and at the lowest density was found in chromium-nickel. The biofilm density of the control material polystyrene was found to be medium.

Our results showed that *H. pylori*, which is reported to be found in saliva and dental plaque in the oral cavity, can also be found in dental prostheses and that the prostheses can create a suitable environment for colonization. Therefore, it was thought that the potential of *H. pylori* to form a biofilm on the inner surfaces of dental prostheses might cause the bacteria to not get affected by the antibiotic treatment, leading to treatment failure/reinfection.

We believe that the data obtained from this study, which is the first research conducted with dental prostheses, will contribute to future studies that will investigate the biofilm formation potential in the oral cavity, antibiotic resistance, and eradication of *H. pylori*.

Key Words: *Helicobacter pylori*, Real-time PCR, SEM, Dental prosthesis, Reinfection.

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No: 29685

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori enfeksiyonu dünya popülasyonunun yarısından fazlasını etkileyen, genellikle çocukluk çağında edinilen ve tedavi edilmediği takdirde ömür boyu seyreden bir enfeksiyondur. Farklı *H. pylori* suşları farklı virulans özelliklerine sahip olmakla birlikte çevresel ve konağa bağlı faktörlerden dolayı enfeksiyon farklı seyredebilmektedir (1).

Dünyadaki en yüksek prevalansa sahip insan patojenlerinden biri olmasına karşın *H. pylori*'nin bulaş yolları halen tam olarak kesinlik kazanmamıştır. İnsandan insana bulaşma en düşünülen yol olmakla beraber *H. pylori* enfeksiyonlarının tutulum bölgesi ve bakterinin çoğalması için gastrik tip mukozaya yönelimi göz önüne alındığında bulaşın gastro-oral, oral-oral veya fekal-oral yol ile gerçekleşebileceği düşünülmektedir (2).

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilerle insandan insana bulaşmanın hijyenik olmayan koşullar sebebiyle fekal-oral yolla birlikte bakterinin DNA'sının mide suyunda, mide içeriğinde, tükürük ve diş plağında saptanmasıyla oral-oral ve gastrik-oral yol ile de mümkün olduğu düşünülmektedir. Bakteri kolonizasyon için özel koşullara ihtiyaç duymakta ve bu koşullar midede, diş plağında ve periodontal cepler gibi insan vücudunun bakterinin kolonizasyonu için elverişli bölgelerinde sağlanabilmektedir. Bu tür kolonizasyonlar enfeksiyonun tekrarlamasında ve tedavinin başarısız sonuçlanmasında bir neden olarak ileri sürülmektedir (1, 3). *H. pylori*'nin tükürük ve diş plağı gibi örneklerde saptanması oral boşluğun *H. pylori* için bir rezervuar görevi görebileceği ve reenfeksiyonlara sebebiyet verebileceğini düşündürmüştür (1, 3).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *H. pylori*'nin çeşitli yüzeylerde biyofilm oluşturabildiği ve bu biyofilm oluşturma potansiyelinin antimikrobiyal maddelere direnç artışı ve dış etkenlerden korunma gibi bakterinin hayatta kalması için elzem olan şartları oluşturduğu belirtilmiştir (4).

H. pylori'nin oral kavitede varlığının gösterilmiş olması, farklı çalışmalarda bunun gastrik enfeksiyonla ilişkilendirilmesi, ayrıca periodontal hastalık ve diş plağında gelişen *H. pylori* kolonizasyonu arasında pozitif korelasyon saptanması gibi bulgular *H. pylori*'nin sabit dental protezlerin iç yüzeylerinde de kolonize olarak biyofilm oluşturup oluşturmadığı ve dolayısıyla bu yolla enfeksiyona kaynak teşkil edip etmediği sorusunu akla getirmiştir.

Bu çalışmada sabit dental protezlerin *H. pylori* için bir rezervuar olabileceği hipotezinden yola çıkılarak ilk aşamada dental protezlerin iç yüzeylerinde real-time PCR yöntemiyle *H. pylori* varlığı araştırılmıştır.

Dental protezlerin *H. pylori*'nin biyofilm oluşturabileceği bir yüzey sağlayarak enfeksiyona zemin hazırlayabilme potansiyelinin değerlendirilmesi amacıyla çalışmamızın ikinci aşamasında protezlerin baz materyallerini oluşturan akrilik, dental seramik, titanyum, krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum ve kontrol olarak polistren materyalinde taramalı elektron mikroskobu (SEM) yardımıyla *H. pylori*'nin biyofilm oluşturma potansiyeli incelenmiştir.

Yaptığımız literatür taramasına göre çalışmamız, dental protezlerde *H. pylori* varlığını ve aynı zamanda protez materyallerinde *H. pylori*'nin biyofilm oluşturma potansiyelinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

İnsan ve hayvan midesinde mikroorganizmaların varlığı yüz yılı aşkın bir süredir bilinmektedir. 1875 yılı gibi erken bir tarihte, G. Bottcher ve Maurice Letulle insanda mide ülseri tabanı ve kenarlarında bakterileri göstermişler ancak bakteriler üretilmediği için sonuçlar göz ardı edilmiş ve daha sonra unutulmuştur. Bundan yirmi yıla yakın bir süre sonra 1892’de Giulio Bizzozero köpek midesindeki parietal hücrelerde spiral şekilli bakterilerin bulunduğunu bildirmiştir (5).

1896 yılında Alman bilim insanı Hugo Salomon mide mukozasında yaşayan spiral bakterilerle ilgili ilk kapsamlı çalışmayı yapmış ve spiral şekilli bakterilerin kediler, köpekler ve fareler de dahil olmak üzere çeşitli hayvanların midesinde bulunduğunu gözlemlemiş ancak in vitro ortamda yapay besiyerlerinde üretme çabaları başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Salomon daha sonra spiral bakterileri; kedi, köpek ve kahverengi Norveç sıçanının mide mukusundan beyaz farelerin mide bezlerine aktarmayı başarmıştır (6).

1875 yılındaki ilk gözlemlerden sonra insan midesinde spiral bakterilerin tespit edilmesi ise 1906 yılında Walter Krienitz’in gastrik kanserli bir hastanın mide örneklerinde spiral mikroorganizmaları tanımlaması ile gerçekleşmiştir (5).

1930’lu yıllara kadar aralıklı olarak midede bulunan spiral şekilli bakterilerle ilgili araştırmalar ve pozitif bulgulara eleştiriler devam ederken 1938 yılında James Doenges (7), postmortem 242 insan mide örneğinin %43’ünde ve aynı şekilde 24’ü kontrol olmak üzere toplam 43 postmortem maymun mide örneğinde spiroketlerin bulunduğunu bildirmiş ve ayrıca insanda gözlenen spiroket morfolojisindeki bakterilerin maymunlardakinden daha kısa ve spirallerinin daha az sayıda olduğunu belirtmiştir. 1940 yılında Stone Freedburg and Louis Barron (8), inceledikleri 35 parsiyel gastrektomi örneğinin %37’sinde “spiroketlerin” bulunduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar gördükleri bakterileri tanımlayamadılar ve bu bakterilerin mide ülseri bulunan hastalarda daha sık görüldüğünü vurgulamışlardır. Spiral görünümlü bakterilerin postmortem kontaminant olmadığını kanıtlar nitelikte olan bu çalışma, Doenges’in çalışmalarını desteklemiştir. Mide örneklerinin incelendiği sonraki çalışmalarda bu bulgu doğrulanamamış (olasılıkla gümüşleme boyası gibi doğru boyama yönteminin o yıllarda rutin olarak kullanılmaması nedeniyle) ve kıvrık morfolojiye sahip bu bakterilerin oral kontaminantlar olabileceği sonucuna varılmıştır (5, 9, 10). Ayrıca Doenges

(7)'in çalışmasında olduğu gibi insan dışındaki diğer memelilerde spiral mide bakterilerinin varlığının gösterilmesi ve bu bakterilerin hiçbir hastalıkla ilişkilendirilmemiş olması, insanda görülen spiral bakterilerin hayvanlardakilerle aynı ve dolayısıyla normalde midede yaşayan aside dayanıklı bakteriler olduğu gibi yanlış bir varsayıma yol açmış ve bu varsayım insanlarda spiral şekilli mide bakterilerinin araştırılmasını bir süre kesintiye uğratmıştır (9).

1950'lere gelindiğinde ise çeşitli araştırmacılar tarafından gastrik ülserler ile gastrik mukozada bulunan üreaz enzimi arasında bir bağlantı bulunduğu, üreaz aktivitesinin gastrik mukozada üre ve hidrojen iyonlarının reaksiyonu sonucu amonyak oluşumuna yol açarak gastrik asidi nötralize etmek suretiyle koruyucu olduğu bildirilmiş ve midedeki üreaz aktivitesinin bakteri kaynaklı olduğu gösterilmiştir (5).

Sonraki yıllarda fiberoptik biyopsi tekniklerinin ortaya çıkışı antrum biyopsisinin yapılmasına olanak sağlamış ve 1975 yılında H. W. Steer ve G. Colin-Jones (11) gastrik ülserli hastalarda mukozal değişiklikleri inceledikleri çalışmalarında gastroskopi ile alınan biyopsi örneklerinin %80'inde Gram negatif kıvrık çomaklar gözlediklerini ve kültürde ise *Pseudomonas aeruginosa* izole ettiklerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde 1980'lere kadar olan süreçte mide mukozasında kıvrık veya kok formunda bakterilerin saptandığını bildiren çeşitli çalışmalar olsa da bu bakteriler tanımlanamamış ve izole edilememiştir (9). Bu süreç, Avustralyalı patolog Robin Warren ve Barry Marshall'ın bakterilerin gastrite neden olduğunu kanıtlamak için yaptıkları deneylere kadar devam etmiştir (12).

Warren (9) son birkaç yılda mide biyopsi örneklerinde küçük kıvrık ve S şeklinde bakteriler gördüğünü ancak bu bakterilerin hematoksilen-eozin boyası ile görülmesinin güç olduğunu bununla birlikte Warthin-Starry gümüş yöntemi ile daha iyi boyandıklarını bildirmiştir. Warren ve genç klinisyen Marshall peptik ülserli hastaların mide dokusunda gördükleri kıvrık şekilli bakterileri izole etmek için birlikte çalışmaya başlamışlar ve 1982 yılında *Campylobacter*'e benzettikleri bakterilerin kültür çalışmaları için mikroaerofilik koşulları kullanmışlardır. İlk denemelerinde iki günlük inkübasyon sonrasında kültürü sonlandırdıkları için üreme saptayamamışlar ancak paskalya tatili nedeniyle 6 gün inkübasyonda bırakılmak durumunda kalan besiyerlerinde ilk üremeyi gözlemlemişlerdir. 1982 yılında kültürünü başardıkları "tanımlanamayan kıvrık basillere" *Campylobacter pyloridis* (pilorik *Campylobacter*) ismini vermişlerdir. *C. pyloridis*'i peptik ülser hastalığı ile ilişkilendirdikleri makaleleri Haziran 1984'te Lancet dergisinde yayımlandıktan sonra (10) dünyanın dört bir yanındaki diğer araştırmacılar benzer bulgular bildirmeye başlamıştır. Daha sonra Marshall'ın bir hastadan izole edilen canlı bakterileri (*H. pylori*) gönüllü olarak ağız

yolundan almasıyla bu bakterilerin histolojik olarak normal mukozayı kolonize edebileceği ve gastriti indükleyebileceği gösterilmiş ve böylelikle Koch postulatları da yerine getirilmiştir (12, 13).

1987 yılında bakterinin adı *Campylobacter pylori* olarak düzeltilmiştir. Daha sonra yağ asidi profili ve major yapısal özellikleri de *Campylobacter*'den farklı olan bu bakteri 16S rRNA gen dizi analizine göre 1989 yılında *Helicobacter* adı verilen yeni bir cins içinde sınıflandırılmıştır (14).

1994 yılında ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından *H. pylori*'nin peptik ülserin birincil nedeni olduğu ve *H. pylori* ile enfekte olan ülser hastalarının tedavi edilmesi gerektiği bildirilmiştir (15). Aynı yıl Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne bağlı çalışan Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından *H. pylori*'nin insanlar için 1. grup karsinogen olduğu açıklanmıştır (16).

H. pylori'nin tanımlaması ve kültürde üretilmesinin başarılması ile birlikte gastroenteroloji alanında yeni bir dönem başlamış ve 2005 yılında Warren ve Marshall *H. pylori*'nin gastrit ve peptik ülser hastalığındaki rolünü keşfettikleri için Nobel ödülüne layık görülmüşlerdir (17).

2.2. *H. pylori*'nin Özellikleri

2.2.1. Sınıflandırma

Helicobacter cinsi, *Epsilonproteobacteria* sınıfının *Helicobacteriaceae* ailesinin bir üyesidir. Daha önce *Proteobacteria* sınıfının epsilon alt sınıfı olarak bilinen bu ailenin klinik açıdan en önemli üyesi *H. pylori*'dir. Ailenin diğer bir cinsi olan *Wolinella* ile *Helicobacter*'ler fenotipik olarak *Campylobacter* cinsine benzerdir. *Helicobacter* cinsinin, *Campylobacter*, *Arcobacter* ve *Wolinella* ile birlikte 16S RNA-DNA hibridzasyon analizlerine göre rRNA süperailisi VI bakteri grubuna ait olduğu bildirilmiştir (18). Spesifik yağ asidi profilleri, solunum kinonları, üreme için gerekli şartlar ve enzim karakteristikleri gibi özellikler *Helicobacter*'lerin ayrımında kullanılmakla birlikte 16S rDNA analizleri sınıflandırma için önemlidir ve *Helicobacter*, *Campylobacter* ve *Arcobacter* cinslerinin taksonomik olarak ayrılmasında kullanılmaktadır (19).

Helicobacter cins adı resmi olarak 1989 yılında bildirilmiş ve ilk olarak insan gastrik patojeni olan *H. pylori* ve gelinciklerin midesinde bulunan *H. mustelae* olmak üzere iki tür

tanımlanmıştır (14). 1991 yılında ise taksonomi revizyona uğramış ve *H. cinaedi* ve *H. fennelliae* türleri bu aile içinde yerlerini almışlardır. Bu türler *Campylobacter*'ler ile benzer özellikler gösterse de farklı rRNA sekanslarıyla *Campylobacter* cinsinden ayrılmışlardır. *Helicobacter* cinsi bakteriler gastrik ve enterohepatik *Helicobacter*'ler olarak ikiye ayrılırlar. Gastrik gruba *H. pylori* ve *H. heilmannii*, enterohepatik gruba ise *H. winghamensis*, *H. canis*, *H. salomonis*, *H. fennelliae*, *H. pullorum*, *H. cinadei*, *H. canadensis*, *H. felis*, *H. westmead*, ve *H. rappini* gibi *Helicobacter* türleri dahildir (15, 19, 20).

Günümüzde gen dizilemelerine dayanan filogenetik analizlerle bu cins içindeki farklı türler tanımlanmıştır (18). Tanımlanan *Helicobacter* türlerinin artmasıyla birlikte, filogenetik analizler için kullanılan 16S rRNA gen sekanslama yöntemi sınıflandırılma ve filogenetik analiz duyarlılığı açısından kısıtlı olduğundan ısı şok proteini 60 ve 23S rRNA gibi bilgilendirici genler filogenetik çalışmalarda kullanılmaktadır (21, 22).

Helicobacter cinsinin taksonomisi ile ilgili ileri bilgiler *H. pylori* dışı türlerin tüm genom analizleriyle mümkün olacaktır. Karşılaştırmalı genomik çalışmalarla birlikte taksonomik analizlerin daha ayrıntılı yapılabileceği düşünülmektedir.

2.2.2. Mikrobiyolojik Özellikler

H. pylori gastrik, duodenal ve özofageal epiteli kaplayan mukusta kolonize olan, Gram negatif spiral şekilli, spor oluşturmeyen, kapsülsüz, mikroaerofilik bir bakteridir. Bakteri 0,5 – 1 µm genişliğinde ve 2,5 – 4 µm uzunluğundadır. Katalaz, oksidaz ve üreaz enzimleri bulunur. Yüksek motiliteye sahip olan *H. pylori* çoklu, polar, kılıflı flajellere sahiptir ve flajelleri ile gerçekleştirdiği tirbuşon hareketi tipiktir (23).

H. pylori'nin üremesi için optimum sıcaklık 35-37°C'dir; Üreme için nemli ve mikroaerobik ortama (%5-10 CO₂, %5-10 O₂, %80-90 N₂) gereksinim gösterir. İnkübasyon süresi 3-7 gündür. Gram boyama ile küçük, kıvrak çomaklar şeklinde görünürler. Bununla birlikte *H. pylori*'nin in vitro ortamda kültürden izolasyonu güçtür, dolayısıyla *Brucella* agar, Columbia agar, beyin-kalp infüzyon agar gibi besiyerlerine zenginleştirici olarak at kanı, maya özeti, beta-siklodekstrin gibi katkıları eklenmektedir. Taze kültürlerde kıvrık ve spiral şekillerde gözlenen *H. pylori*, eskimiş kültürlerde besin yetersizliği, artan oksijen miktarı, alkali pH, yüksek sıcaklık ve farklı antibiyotiklere maruz kalma gibi durumlarda kokoid formlarda gözlenebilmektedir. Kokoid formdaki *H. pylori*'nin düşük metabolik aktiviteye

sahip, antibiyotiklere karşı daha dirençli, bakteriyi zorlu çevresel koşullardan koruyan bir dormant form olduğu düşünülmektedir. Dormant formdaki bakterilerin kültürü yapılamadığından elektron mikroskopisi ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı tanı yöntemleri ile dormant formun tespiti mümkündür (20, 23, 24).

Katalaz, oksidaz ve üreaz aktivitesi dışında alkalen fosfataz aktivitesinin pozitif, indoksil asetat hidrolizi ve nitrat redüksiyonu aktivitelerinin negatif olması ve geleneksel mikrobiyolojik biyokimyasal testlerde başvurulan karbonhidrat kullanımından yoksun olması ayırt edici biyokimyasal özelliklerindedir (20, 25).

H. pylori'nin hücre duvarı Gram negatif yapıdadır; dış membranında endotoksik özellik gösteren lipopolisakkarit bir yapı mevcuttur. Bakterideki lipopolisakkarit yapı diğer Gram negatif bakterilere oranla çok daha az endotoksik etki gösterir. Bu durumun konak enflamatuvar yanıtının sınırlanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (26). Lipopolisakkarit tabaka bakterinin dış membran işleyişi ve fiziksel bütünlüğü için gerekli olmakla beraber temel yüzey antijenleri (O antijeni) diğer mikroorganizmalar ve çevreleri ile etkileşimde önemli bir rol oynar.

Lipopolisakkarit tabaka lipit bileşenleriyle (Lipit A) immünoestimülatör ve immünomodülatör özellik göstermektedir. Bu bileşenler ayrıca non-immünglobulin serum faktörleri ve antikolar için bağlanma bölgelerini oluştururlar (27). *H. pylori*'de adezyonda görevli çeşitli dış membran proteinleri mevcuttur. Bu proteinlerden en önemlileri BabA, SabA, AlpA, AlpB, HpA ve HopZ'dir (28, 29).

2.2.3. Virülans Faktörleri ve Patogenez

H. pylori'nin gastrointestinal mukoza yüzeyindeki canlılığı pek çok kolonizasyon ve virülans faktörü ile ilişkilidir. Midenin asidik ortamı üreme için uygun bir ortam olmadığından üreaz enzimi, mide mukozasındaki ürenin hidrolizini sağlayarak üreyi NH₃ ve CO₂'ye parçalayarak bakteri için koruyucu rol oynamaktadır. Üreaz aktivitesi mide asidini nötrler ve çevre hücrelerin pH'sını yükseltir. Ayrıca üreaz enzimi alt birimleri enflamatuvar sürece katılarak, gastrik epitel hücrelerindeki CD74 reseptörleri ile etkileşime geçerek bir adezin rolü görmektedir (30).

H. pylori'nin, üreaz dışında da önemli enzimleri bulunmaktadır. Bunlar, bakterinin aktive olmuş polimorf nüveli lökositlere karşı dirençli olmasını sağlayan katalaz ve

süperoksit dizmutaz enzimleridir. Bu enzimlerin bakteriyi hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen substratlarından koruduğu düşünülmektedir (31).

Flajel, *H. pylori*'nin gastrointestinal sistem kolonizasyonunda büyük bir öneme sahiptir. Yüzme hareketi, yayılma hareketi ve yığılma hareketi gibi değişik tiplerde harekete olanak sağlar. Bu değişik tipteki hareketlilik sıvı ortamda, agar da ve yarı-katı veya katı besiyerlerinde motiliteyi mümkün kılmakla beraber kolonizasyonda, enflamasyonda ve immün yanıtta kaçışta rol oynamaktadır (32).

H. pylori'nin bir diğer önemli virülans faktörü özelleşmiş adezin yapılarıdır. Adezinler bakterinin mide epitel hücrelerine sıkıca bağlanmasını ve kolonizasyonun kolaylaşmasını sağlar. Bu şekilde mide peristaltik hareketlerinden de korunan bu bakterinin en önemli adezinleri; *babA* ve *sabA* genleri tarafından kodlanan BabA ve SabA proteinleridir. BabA proteini mide epitel hücreleri yüzeyinde bulunan Lewis kan grubu antijenlerine bağlanır. Yapılan çalışmalarda; *babA2* genine sahip suşların midede daha fazla kolonize oldukları, bu kolonizasyonun IL-8 salınımını artırdığı ve duodenal ülser ile mide kanseri riskini artırdıkları gösterilmiştir. SabA adezini ise, mide epitelinde siyalil-Lewis x veya fukozil-Lewis x adı verilen glukokonjugatlara bağlanarak adezyonda rol oynamaktadır (19, 28, 33).

H. pylori'nin dış yüzeyi dikkat çekici özelliklere sahiptir; bakteri konak kolesterolünü glikolize ederek kendi dış membranına aktarır. Glikolize kolesterolün görevi henüz tam olarak bilinmese de dış membranında kolesterol bulunmayan suşların çevresel strese karşı oldukça duyarlı oldukları öne sürülmektedir. Ayrıca kolesterol glikozilasyonunun CagA aracılı aktivitelere ve konak immün sisteminden kaçmada rol oynadığı belirtilmiştir. Bir diğer ilginç zar özelliği ise düşük endotoksik etki gösteren lipopolisakkarit tabakadır. Bu durumun konak enflamatuvar yanıtının sınırlanmasına katkıda bulunduğu düşünülmektedir (34-36).

H. pylori kolonizasyon ve hastalık şiddetini etkileyen bir dizi virülans faktörüne sahiptir. *cagA* (sitotoksin-ilişkili gen A) tarafından kodlanan CagA en önemli ve en çok çalışılmış virülans faktörüdür. CagA-pozitif *H. pylori* suşları enflamatuvar yanıtı yol açarak ülserleşme ve kanserleşme riskini artırmaktadır (37, 38). *cagA* geni, tip IV sekresyon sistemi bileşenlerini de eksprese eden bir patojenite adasında (*cag*-PAI) kodlanır. Bu sekresyon sistemi, şırıngaya benzer bir yapıya sahip olup, önceleri CagA'nın hedef konak hücrelere enjeksiyonu dışında bir öneme sahip olmadığı düşünülürken, yapılan çalışmalarda CagA'dan

bağımsız işlevleri olduğu ortaya konulmuştur. Örneğin, bu şırınga sistemi sayesinde CagA dışında, yapısal bir protein olan CagL de konak hücreye enjekte edilmekte ve bu protein fibronektin proteininin bazı önemli fonksiyonlarını taklit etmektedir (39, 40).

CagA; konak hücre fizyolojisini, sinyal yollarını bozarak etkilemektedir. *H. pylori* konak hücre ile temas ettiğinde, CagA direkt olarak tip IV sekresyon sistemi tarafından konak hücre sitoplazmasına enjekte edilmekte ve burada konak sitoplazmik tirozin fosfataz enzimi olan SHP-2'nin SH2 alanına bağlanarak fosforillenmektedir. SHP-2'deki mutasyonlar ile CagA aktivitesi ve tümör gelişimi arasında mekanik bir bağlantı olduğu ortaya konmuştur. CagA aynı zamanda c-Met gibi sinyal transdüksiyonunda rol alan diğer proteinlerle de etkileşime girmektedir. CagA tüm bu bileşenlerle birlikte fenotipik olarak hücre-hücre adezyonunun regülatif bozulmasına ve epitel polaritenin azalmasına, dolayısıyla konak hücrenin invaziv bir karsinom hücresi davranışı sergilemesine yol açmaktadır (41-43).

CagA'nın karboksi terminal bölgesinde bulunan tekrarlayan beş amino asitten (Glu-Pro-Ile-Tyr-Ala) oluşan ve dört tipi (EPIYA-A, B, C, ve D) bulunan motif (EPIYA motifi) fosforilasyon bölgesidir ve değişik klinik izolatlar EPIYA motiflerinin sayısı bakımından farklılık gösterir. EPIYA motiflerinin önemi, belirli EPIYA polimorfizmlerinin kanserleşme ile güçlü bir bağlantısının olduğunun düşünülmesinden gelmektedir. EPIYA motifinden yoksun CagA fosforile edilemez ve SHP-2 bağlanması ile indüklenen SHP2/ERK yolu yerine STAT3 yolu aktive olur. STAT3 aktivasyonu hücre göçünün artmasına yol açarken, SHP2/ERK aktivasyonu hücre büyümesinin inhibe olmasına ve morfolojik değişikliklere yol açar (44-47).

İlginç bir şekilde, CagA'nın, bir diğer bakteri proteini olan vakuol oluşturan sitotoksin A (VacA)'nın hücrel etkilerini azalttığı düşünülmektedir. VacA, konak hücrede çok sayıda büyük vakuol oluşumunu indükleyebildiği için bu ismi almıştır. VacA CagA'nın aksine, sekresyonu için konak hücre temasına gerek olmaksızın bir ototransporter yapı oluşturmaktadır. VacA hücre yüzeyindeki reseptör benzeri fosfatazlara (RPTP α ve RPTP β) ve diğer glikolize transmembran proteinlerine bağlanmaktadır. CagA, VacA'nın neden olduğu vakuolizasyon dolayısıyla gelişen apoptozisi azaltır ve VacA'da CagA'nın neden olduğu "hummingbird" fenotipi olarak da bilinen uzamış gastrik epitel hücre formu oluşumunu azaltmaktadır. VacA'nın epitel hücreler üzerindeki dramatik etkilerine rağmen, hastalıklarda nedensel bir rol oynayıp oynamadığı belirsizdir. Bu bilgiler *H. pylori*'nin genetik çeşitliliği ve virülans faktörleri arasındaki ilişkinin patogenezi üzerindeki etkisini vurgulamaktadır (45, 48-51).

2.2.3.1. Biyofilm Oluşturma

Bazı bakteriler genellikle besin açısından kısıtlı ve çevresel şartların zor olduğu ortamlarda buldukları yüzeye tutunarak biyofilm adı verilen topluluklar oluşturmaktadır. Biyofilmler çevrede her alanda (doğal, endüstriyel, klinik alan) bulunmakla beraber pek çok kronik enfeksiyonda da kritik rol oynamaktadır. Biyofilmler genellikle birden fazla bakteri türünden oluşmaktadır; örneğin dental biyofilmler 500'den fazla bakteri türü içermektedir. Biyofilm, canlı ve ölü bakteriler ile birlikte polisakkaritler, nükleik asitler ve proteinler gibi bakteriler tarafından üretilen çeşitli ekstraselüler polimer maddelerden (EPS) oluşan matriks adında bir yapıdan oluşmaktadır. Biyofilmlerde EPS matriks, biyofilmin %90'lık kısmını oluşturabilmektedir. Bakterinin yüzeye ilk tutunması hidrofobik ya da elektrostatik etkileşimlerle olabilmekte birlikte spesifik bakteri yüzey molekülleriyle de gerçekleşebilmektedir. İkinci adımda yüzeye tutunan bakteriler EPS ile çevrili mikrokoloniler oluşturur. Bir sonraki adımda bakteri popülasyonundaki artışla beraber biyofilm tabakası kalınlaşır. Son adımda ise kalınlaşan biyofilm tabakasından kopan planktonik bakteri hücreleri diğer bölgelere yayılırlar (4).

Biyofilm oluşturan bakteriler planktonik bakterilerden farklı özelliklere sahiptirler. Bu özelliklerden biri antimikrobiyal ajanlara karşı artan dirençtir. Bir diğer önemli özellik ise, biyofilmde bulunan hücrelerin, virülans faktörü genlerinin ekspresyonu açısından, planktonik bakterilerden farklı bir model sergilemeleridir. Bu özelliğe örnek olarak, biyofilm hücrelerinin birbirleriyle iletişim kurmalarını sağlayan hücrelerarası iletişim sistemi (Quorum Sensing [çevreyi algılama]) verilebilir (4).

Bu sistem bazı sinyal moleküllerini iletişim aracı olarak kullanmaktadır. Bu moleküller bir eşik değere ulaştınca sinyal transdüksiyonu başlar ve böylelikle virülans faktörleri, sekresyon sistemi, motilite, sporülasyon ve biyofilm formasyonu ile ilgili çeşitli gen ekspresyonları tetiklenir. Böylelikle biyofilm tabakasında bulunan tüm bakteriler hem biyofilmin oluşumunda hem de virülans faktörleri, sekresyon sistemleri, sporülasyon gibi gen ifadelerini birbirleriyle paylaşabilirler (4, 52).

H. pylori in vitro olarak biyofilm oluşturma yeteneği ortaya konmuş bir bakteridir. Stark ve ark. (53), *H. pylori* NCTC 11637 suşunun beta-siklodeskrin katkılı *Brucella* sıvı besiyerinin su-hava arayüzeyinde polisakkarit içeren, suda çözünmeyen bir biyofilm oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. Daha sonra, Cole ve ark. (54), bakterinin cam yüzeyler üzerinde biyofilm oluşturma kabiliyetine sahip olduğunu göstermişlerdir. *H. pylori* mide

mukozaasında da biyofilm oluşturabilmektedir. Ayrıca su sistemlerinde biyofilm oluşturmabilme yeteneğine sahip olduğu düşünülmektedir (4, 55).

2.3. Epidemiyoloji

2.3.1. Bulaşma Yolları

Helicobacter türleri insanların yanı sıra köpekler, kediler ve sığırlar dahil olmak üzere çeşitli hayvan konakların gastrointestinal ve hepatobilier sisteminden izole edilmiştir. *H. pylori* ise karakteristik olarak güçlü üreaz aktivitesine sahip olan ve insanlarda sık görülen bir *Helicobacter* türüdür. Midenin rezervuar görevi gördüğü *H. pylori* enfeksiyonlarında hayvandan insana bulaşma kanıtlanamamıştır. Bakteri midede kardial, korpus ve antrumda kolonize olmaktadır, ancak proksimal duodenumun gastrik metaplazi bölgelerinde de bulunabildiği belirtilmiştir (20).

H. pylori'nin insandan insana bulaşma şekli halen kanıtlanmaya çalışılmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde yetersiz sanitasyon ve kontamine su kaynaklarının büyük risk oluşturduğu öne sürülmekte, hem oral-oral hem de fekal-oral yol olası bulaşma yolları arasında sayılmaktadır. Kamu kullanımına açık su kaynaklarının kontamine olması, kültür pozitif su örneklerinin çok az sayıda olması nedeniyle kanıtlanamamıştır. Uygun şekilde muhafaza edilen ve kültürü yapılan *H. pylori*'nin dezenfeksiyon işlemlerine karşı dayanıklı olduğuna dair bir kanıt olmasa da kültürü yapılamayan formların canlı kalabildiği düşünülmektedir. Uygun sanitasyonun sağlanamadığı zihinsel engelli okulları ve yetimhaneler gibi kurumlardaki insan popülasyonlarında kolonizasyon prevalans ve insidansının yüksek olması fekal-oral yolun geçerli olabileceğini düşündürmektedir (56-60).

Oral-oral yolla bulaşma *H. pylori*'nin mide gastrik sıvısının geri kaçması (regürjitasyon) dolayısıyla oral kavitedeki geçici kolonizasyona bağlanmaktadır. Bir diğer olası bulaşma yolu ise *H. pylori*'nin saatlerce canlı kalabildiği kusmuk örnekleridir. Kişiden kişiye bulaşma, sıklıkla horizontal bulaşma şeklinde özellikle anne-çocuk ve kardeşler arasında görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde, örneğin yüksek prevalansa sahip Güney Afrika'nın kırsal kesimlerinde hem aile içi hem de aile dışı bireylerdeki suşların birbiriyle ilişkili paternlerine rastlanmıştır. Kentsel yaşamda ise klonal bulaşmanın daha çok birinci dereceden akrabalar arasında görüldüğü belirtilmektedir. Kişiden kişiye bulaşmanın araştırılmasında en iyi yolun hane halkı içindeki bulaşmanın incelenmesi olduğu, ancak kanıtların yorumlanmasının halen karmaşık olduğu bildirilmektedir (20, 23, 61, 62).

2.3.2. Dünyada ve Türkiye’de *H. pylori* Prevalansı

H. pylori neredeyse insan popülasyonunun yarısında kolonize olmuş bir bakteri olmakla birlikte *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde farklılık göstermektedir. Gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyon erken yaşta meydana gelmektedir ve 10 yaşına kadar birçok çocuk enfekte olmaktadır. Yetişkin gruplarında ise prevalans yüksektir. Gelişmiş ülkelerde 30 yaş altı grupta düşük bir enfeksiyon oranı görülürken ileri yaşlarda bu oran %40-50'lere çıkmaktadır. Bu sonuçların enfeksiyon oranlarının artmasından çok kohort etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. *H. pylori* suşlarının farklı virulans özelliklerine sahip olması, çevresel şartlar, konak şartları, kültür farklılıkları, tedavi ilkeleri gibi faktörler sebebiyle prevalans ülkeden ülkeye farklılık gösterebilmektedir (20, 23, 63).

Asya’da gerçekleştirilen çalışmalarda, Çin’de yaşça büyük (>60) bireylere odaklanılmış ve yüksek prevalans (%83,4) tespit edilmiştir (64). Japonya’nın yedi farklı bölgesinde gerçekleştirilen ve 1997-2013 yıllarını kapsayan kesitsel bir çalışmada farklı tanı testleri (seroloji, dışkıda antijen testi, idrarda antikör testi) kullanılmış ve çalışmada bölgeler arasında prevalans açısından önemli farklılıklar (%29,4-%54,5) saptanmıştır. En düşük prevalansın Kuzey bölgesinde bulunması, diğer testlere göre düşük duyarlılığa sahip olduğu bilinen idrar antikör testinin kullanılmış olmasına bağlanmıştır. Ayrıca gerçekleştirilen bu çalışmada kadınlara göre erkeklerde *H. pylori* prevalansı daha yüksek bulunmuştur (%37,6; %43,2). Yaşa göre prevalans incelendiğinde ise en yüksek prevalans 1940-1949 yılları arasında doğmuş bireylerde saptanmıştır. Bu durum yaşam standartlarının iyileşmesine bağlı olarak prevalansın düşmesi ile doğum kohort etkisinin belirgin bir şekilde görülmesini sağlamıştır. Japon popülasyonunda genç bireylerde prevalans belirgin bir şekilde düşüş göstermektedir (65).

Avrupa’da Kuzey ülkelerinden Hollanda’da dört farklı bölgeden rastgele seçilen 1550 kan donöründen alınan örnekler *H. pylori* ve CagA antijenlerine karşı oluşan antikör varlığı açısından incelenmiştir. Bu çalışmada, yalnız Hollandalı denekler değerlendirilmiş ve Avrupalı olmayan göçmenler çalışmaya alınmamıştır. Çalışmanın sonucunda *H. pylori* seropozitifliği saptanan hasta sayısı 492 (%31,7) olarak bildirilirken, bu hastaların içinde CagA seropozitifliği bulunan hasta ise 138 (%28) olarak bildirilmiştir. *H. pylori* seroprevalansı, 1935-1946 doğumlu deneklerde %47,7’den, 1977-1987 doğumlularda doğum kohortunun olası bir sonucu olarak %16,4’e düşmüştür. Aynı yaş gruplarında CagA pozitifliği açısından da prevalans %37,7’den %14,3’e düşmüştür. Bu veriler araştırmacılara

göre önümüzdeki yıllarda gelişmiş ülkelerde ve Hollanda'da *H. pylori* prevalansının azalmasının beklenebileceğini düşündürmektedir (66).

Hollanda'da bu çalışmanın dışında 6837 hamile donör ile gerçekleştirilen bir çalışma yayımlanmıştır. Bu çalışmaya göre Hollandalı hamile kadınlarda *H. pylori* prevalansı %24 olarak saptanmıştır. En önemli bulgu ise Hollandalı olmayan hamile kadınlarda *H. pylori* seropozitifliğinin %64 gibi bir oranla çok daha yüksek olmasıdır. *H. pylori* pozitifliği sırasıyla en yüksek Faslı (%92), Yeşil Burun Adalı (%80), Türk (%81), Hollanda Antillerili (%60) ve Surinamlı (%58) hamile kadınlarda saptanmıştır. Ayrıca ikinci bir grupta Hollanda dışında doğmuş birinci nesil göçmenlerde ikinci nesil göçmenlere göre daha yüksek prevalans saptandığı bildirilmiştir. Dolayısıyla, bu çalışmada etnik köken ve göçmen topluluklar *H. pylori* için önemli bir belirteç olmuştur (67).

Kuzey Avrupa ülkelerinin aksine, Portekiz'de enfeksiyon prevalansının yüksek (%84,2) olduğu, CagA seropozitifliğinin ise %61,7 olduğu ve Portekiz'de *H. pylori* oranları'nın diğer Avrupa ülkelerine göre daha yüksek olduğunu belirtilmiştir (68).

Kuzey Amerika'da *H. pylori* prevalansı Kuzey Avrupa ile yakın oranlarda tespit edilmiştir. Kanada'da dispepsili ve gastroskopi için yönlendirilmiş 203 aborjin hasta ile gerçekleştirilen çalışmada *H. pylori* enfeksiyon prevalansı histoloji sonuçlarına göre %37,9 olarak tespit edilmiştir (69). Bu bulguların aksine, Meksika'da gerçekleştirilen bir çalışma Latin Amerika'daki yüksek *H. pylori* enfeksiyon prevalansını ortaya koymuştur. Meksika'nın kırsal alanında 343 hamile kadın ile gerçekleştirilen bu çalışmada seroprevalans %52,2 olarak tespit edilmiştir (70).

Uganda ve Şili'de hamile kadınlarda gerçekleştirilen iki ayrı araştırmadan Uganda'da yapılan çalışmada; *H. pylori* prevalansı coğrafi bölge farklılıklarına göre oldukça farklı oranlarda (%18,2-%60,5) bildirilmiş ve bu durumun kullanılan su kaynakları ile ilgili olabileceği belirtilmiştir (71). Şili'de gerçekleştirilen çalışmada ise 274 hamile kadından 188'inde (%68,6) *H. pylori* tespit edilmekle birlikte dispeptik semptomlar ve gebelik sırasında ortaya çıkan hiperemesis ile *H. pylori* pozitifliği arasında anlamlı bir ilişki bulduklarını belirtmişlerdir (72).

Bolivya'da kırsal yerleşim bölgesinde küçük yaşta çocukların dahil edildiği 1065 kişinin katıldığı çalışmada, prevalans %80 (848) oranı ile oldukça yüksek bulunmuştur. Ayrıca en düşük prevalansun 3 yaşından küçük grupta olduğunu ve en yüksek artışın da 3 yaşından küçük grup ile 3-4 yaş arasındaki çocuklarda olduğunu bildirmişlerdir (73).

Ülkemizde ise *H. pylori* görülme sıklığı oldukça yüksektir. Nüfusun %80'inin 20 yaşına kadar enfekte olduğu belirtilmektedir (74). Türkiye'de 81 il genelinde yapılan popülasyona dayalı kesitsel bir çalışmada, ülke genelinde 4600'den fazla birey üre nefes testi ile taranmış ve enfeksiyon prevalansı %82,5 gibi yüksek bir oranda saptanmıştır. İlginç bir şekilde prevalansın, ülkemizin narenciye yetiştirilmesi bakımından en zengin olan güney kesiminde yaşayan ve genellikle narenciye bakımından zengin bir beslenme tarzı benimseyen bireyler arasında daha düşük olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla yazarlar, C vitamininin birçok enfeksiyonun önlenmesinde rolü olduğu da düşünüldüğünden, *H. pylori* enfeksiyonlarının önlenmesinde de önemli rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (75).

Ülkemizin Kuzeydoğu bölgesinde bulunan Kars ilinde 1400 hasta ile gerçekleştirilen çalışmada 994 (%71,1) pozitiflik tespit edilmiştir (76). Yine ülkemizden Diyarbakır ilinde Önder ve arkadaşlarının (74) yaptığı oral hijyen ve *H. pylori* pozitifliğinin araştırıldığı bir çalışmada, çalışmaya dispeptik yakınmaları olan 66 hasta dahil edilmiş ve hastalar oral hijyenlerine göre iyi, zayıf ve kötü olarak gruplandırılmıştır (sırasıyla; 11 [%16,], 29 [%43,9] ve 26 [%39,4]). Hastaların %78,8'inin (52 hasta) gastrik biyopsi örneğinde *H. pylori* pozitifliği saptanmıştır. Oral hijyen indeks grubu iyi olan hastalarda gastrik *H. pylori* varlığına istatistiksel oranda anlamlı şekilde daha az oranda rastlanmıştır. Türkiye'de gerçekleştirilen ve *H. pylori*'nin oral kolonizasyonuna değinen bir başka çalışma da Gürbüz ve arkadaşları (77) tarafından İstanbul'da gerçekleştirilmiş ve dispeptik 75 hastanın 68'inde dış plağında *H. pylori*'nin varlığı gösterilmiştir.

Ülkemizde Marmara bölgesinden İstanbul ilinde gerçekleştirilen bir çalışmada, çalışmaya dahil edilen 460 hastanın 150 (%33)'sinde histolojik incelemeler sonucunda *H. pylori* pozitifliği tespit edilmiştir. Türkiye geneli düşünüldüğünde bu oran nispeten düşük olarak değerlendirilmektedir (78)

2.4. *H. pylori*'nin Spesifik Hastalıklarla İlişkisi

H. pylori'nin klinik açıdan *Helicobacter* cinsi içindeki en önemli tür olduğu Marshall ve Warren (10)'ın *H. pylori* ile peptik ülseri ilişkilendirdiğinden beri bilinmektedir. *H. pylori*'nin neden olduğu hastalıklar direkt olarak kolonizasyon bölgesi ile ilgili olmakla beraber klinik sonuçları değişkendir. Mikrobiyal ve konak kaynaklı faktörlerin yanısıra çevresel faktörler de bu sonuçlar üzerinde rol oynamaktadır.

Birçok ülkeden araştırmacıların katıldığı Maastricht Konsensus Konferanslarında gerçekleştirilen çalışma gruplarında dispepsi, gastro-özofagal reflü, MALT lenfoması, intestinal metaplazi ve *H. pylori* ilişkileri ele alınmış ve ortaya konan raporda *H. pylori*'nin bu endikasyonlar ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Yine Kyoto Global Konsensus'unun ortaya koyduğu raporda *H. pylori* gastritinin bulaşıcı bir hastalık olarak ele alınması gerektiğinden, *H. pylori*'nin dispepsi ile ilişkisinden ve *H. pylori*'nin eradikasyonunun gastrik kanseri önleyip önlemediğı ele alınıp belirtilen endikasyonlarda *H. pylori*'nin efektif olarak rol oynadığı kabul görmüştür (79-81).

2.4.1. Kronik Gastrit

H. pylori gelişmiş virülans özellikleri sayesinde mide mukozasında kolonizasyona oldukça yatkın ve immün sistemden kaçabilen bir bakteridir. Dolayısıyla, *H. pylori* enfeksiyonlarında kronikleşme sık görülmektedir.

H. pylori ile enfekte bireylerin hemen hemen tümü kronik gastrit şikayetlerine sahip bireylerdir. Kronik gastrit, polimorf nüveli lökositlerin enfeksiyon bölgesine infiltrasyonu ile karakterizedir. Mukozal enflamasyonun süresi akut gastrit ile kronik gastritin ayrımını sağlar. Kronik gastritin pangastrit, antrum baskın ve korpus baskın olmak üzere 3 çeşidi bulunmaktadır. Akut *H. pylori* enfeksiyonu sonrası çoğu akut gastrit olgusu histolojik olarak mononükleer hücreler, lenfositler, plazma hücreleri ve makrofajlar ile karakterize olan aktif kronik gastrite dönüşür. *H. pylori* enfeksiyonlarında karakteristik olarak germinal merkezlerde lenfoid foliküller görülebilmektedir. Antrum baskın gastrit olguları genellikle atrofik duodenal ülserlerle karakterizedir. Kalıcı enflamasyon ise hipoklorhidri veya aklorhidri ile mide atrofisinin gelişmesine sebep olur. Bu değişiklikler bakterinin proksimal göçünü kolaylaştırarak ilerleme eğiliminde bir mültifokal gastrit metaplazisine daha sonra ise gastrik kansere sebebiyet verebilmektedir. *H. pylori* ile kronik gastrit ilişkisi, gönüllü kişilerin bakteri ile enfekte edilmesi sonrasında yapılan gastrik pH ölçümleri, biyopsi materyallerinin histolojik incelemesi ve enfeksiyonu takiben koruyucu antikorların oluşumu veya antibiyotik tedavisi sonrası bakteri eradikasyonu ile birlikte gastritin şiddetinin ölçülmesi gibi çalışmalarla kanıtlanmıştır (2, 19, 82).

2.4.2. Peptik Ülser

H. pylori'nin virülan suşları, peptik ülserasyona yatkındır ve bakterinin tamamen eradikasyonu ile ülserler iyileşmekte ayrıca büyük ölçüde nüks de önlenmektedir. Bununla birlikte, duodenum ülserlerinin ve gastrik ülserlerin patogenezi farklıdır; duodenal ülserler, *H. pylori*'nin neden olduğu antral gastritin bir sonucu olarak ortaya çıkar ve bu da hipergastrinemiye yani hormonal değişimlerden sonra sağlıklı gastrik korpustan yüksek miktarda asit üretimine neden olmaktadır. Duodenum, yüksek asit yüküne cevaben, mide metaplazisi geliştirir ve normal duodenal mukozanın aksine, *H. pylori*'nin kolonizasyonu kolaylaşır. Dolayısıyla enflamasyon ve ülserasyonlar meydana gelmektedir. Buna karşılık, gastrik ülserler *H. pylori* kolonizasyonu tarafından indüklenen antral veya korpus baskın gastrit ile ve normal veya düşük asit seviyeleri ile ilişkilidir. Ayrıca ülserler genellikle yoğun iltihaplanma bölgesi olan antral ve korpus mukozasının birleşme noktasında ortaya çıkmaktadır. *H. pylori* kaynaklı duodenal ülserler genellikle orta yaş bireylerde görülürken, gastrik ülserler tipik olarak daha yaşlı bireyleri etkilemektedir (83-87).

Muhtemelen bu hastalıklarda prevalansın düşmesi, *H. pylori* prevalansının düşmesinden kaynaklanmaktadır. Yaşam standartları iyileştikçe, çocukların bakteriyle karşılaşma olasılıkları gittikçe azalmaktadır. Peptik ülser hastalığının ortaya çıkmasının altında yatan nedenler tam olarak keşfedilememiştir. Olası nedenler olarak sigara kullanımı öne çıkartılmıştır. Bu hipotez çok popüler hale gelse de, ülserler bu kadar yaygın hale gelmeden de diğer tütün mamüllerinin kullanımının çok yaygın olması nedeniyle doğruluğu kanıtlanamamıştır. Bir diğer olasılık, *H. pylori* virülansının artmasıdır. *H. pylori*'nin midede birden fazla suşu mevcutsa, bu suşlar hızlı bir şekilde adapte olabilmekte ve gelişebilmekte; bu da konak ile etkileşimde downregülasyona neden olabilmektedir (83, 88-91).

Ayrıca konak bağışıklığındaki değişimler de hastalık patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Peptik ülser hastalarının, ülserleri olmayan *H. pylori* pozitif hastalarla karşılaştırıldığında, bozulmuş gastrik mukozal Treg yanıtına (düzenleyici T hücresi yanıtı) sahip oldukları ortaya çıkmıştır. On dokuzuncu yüzyılın sonları ve 20. yüzyılın başlarında daha iyi beslenme koşulları ve gelişen hijyenik şartlar nedeniyle kademeli olarak kolonizasyon azalmış ve bu da bazı konaklarda Treg yanıtın daha az olgunlaşmasıyla sonuçlanmış olabileceği ve bunun da gastrik ve peptik ülserasyonun artmasına neden olabileceği belirtilmiştir (84, 92).

2.4.3. Gastrik Adenokarsinom ve *H. pylori* ilişkisi

Gastrik adenokarsinom iki tipte incelenmektedir; yaygın olan intestinal tip ve daha az yaygın olan, sıklıkla daha agresif ilerleyen ve genç bireylerde ortaya çıkma eğilimi olan diffüz tip. Diffüz tip adenokarsinom bazen basit bir *H. pylori* gastritinin arka planında ortaya çıkabilir, intestinal tip gastrik kanser ise pan veya korpus baskın olarak ortaya çıkar ve bunun sonucunda hipoklorhidri gelişir. İntestinal tip gastrik kanser, basit gastritten mide atrofisine, metaplazi, displazi ve karsinoma doğru ilerlemenin son aşaması olarak düşünülmektedir. Bu aşamalarındaki kritik basamak mide atrofisidir. Buna karşın, *H. pylori*'nin atrofi gelişmeden önce eradike edilmesinin karsinogenezi önleyebildiği düşünülmektedir (84, 93).

İnsanlarda gastrik kanserin *H. pylori*'nin neden olduğu atrofi ile ilişkili olup olmadığının anlaşılması için, Cag-A DNA'sı taşıyan transgenik fareler ile çalışmalar gerçekleştirilmiş ve farelerde enflamasyon veya atrofi olmadan adenokarsinom benzeri hitopatolojik değişiklikler göze çarpmıştır. Sonuç olarak, hayvan deneyleri, mekanizmanın anlaşılması açısından yardımcı olsa dahi CagA'nın insan gastrik adenokarsinom gelişimindeki rolünün anlaşılması için daha çok araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (94, 95).

2.4.4. Mukoza ile İlişkili Lenfoid Doku Lenfoması (MALT) ve *H. pylori* ilişkisi

H. pylori'yi MALT lenfoma ile ilişkilendiren ilk çalışma 1991 yılında yapılmıştır (96). Araştırmacılar gastrik MALT lenfoma hastalarının büyük çoğunluğunun *H. pylori* ile enfekte olduğunu gösterip *H. pylori* enfeksiyonunun gastrik MALT lenfoma riskini önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir. Mide dokusu normal şartlarda organize lenfoid dokudan yoksundur. *H. pylori* ile enfekte bireylerde lenfoid foliküller oluşur, bundan dolayı oluşan lenfoid doku morfolojik olarak MALT ile birebir aynıdır (97).

H. pylori'nin MALT lenfoma patogenezindeki önemi çeşitli çalışmalar ile ortaya konmuştur. Hücre kültürlerinde *H. pylori*'ye spesifik T hücrelerinin stimülasyonu ile lenfoma gelişimi gözlenmiştir (98). Antibiyotik tedavisi alan gastrik MALT lenfoma hastalarının % 75'inde gerileme görülmüş ve antibiyotik tedavisine cevap veren hastaların çoğunda klinik olarak gerileme devam etmiştir (99). Bu ve benzeri çalışmalar ışığında *H. pylori* enfeksiyonunun gastrik karsinom riskini artırdığı saptanmış ve IARC tarafından grup 1 karsinojenler arasında sınıflandırılmıştır (16).

2.4.5. *H. pylori*'nin Diğer Hastalıklarla İlişkisi

H. pylori enfeksiyonlarının mide dışında oluşan hastalıklarla ilişkisi halen araştırılan ve merak edilen bir konudur. *H. pylori*, mide içinde ve dışında bulunan birçok biyolojik olaya dahil olabilmekte, dolayısıyla da mide dışında gelişen birçok hastalığın oluşumunda da doğrudan veya dolaylı yoldan rol oynayabilmektedir. İdiyopatik trombositopenik purpura ve demir eksikliği anemisindeki rolü bilinse de yeni ortaya çıkan kanıtlar, *H. pylori*'nin akut koroner sendrom riskini artırabileceğini, insülin direnci gelişimde rol oynayabileceğini ve nörodejeneratif hastalıklar, solunum bozuklukları ve diğer çeşitli rahatsızlıklarla ilişkili olabileceğini göstermektedir. Bu ilişkiler, düşük dereceli bir enflamasyonun devamlı aktif olması veya *H. pylori*'nin moleküler mimikri mekanizmaları gibi değişik patojenik mekanizmalar ile açıklanmaktadır (100).

2.5. Tanı

H. pylori dünyadaki yüksek prevalansına rağmen tanısında çeşitli zorluklarla karşılaşan bir bakteridir. Kullanılan tanı yöntemlerinin belirli avantaj ve dezavantajları bulunmakla beraber bu yöntemler duyarlılık, özgüllük, inazivlik, tecrübe gerekliliği açısından ve ekonomik olarak fark göstermektedir. Günümüzde üreaz aktivitesi, mikroskopi ve kültür gibi birden fazla tanı yöntemi kombine olarak kullanılarak duyarlılık, özgüllük ve ekonomiklik gibi faktörler de göz önüne alınarak en doğru sonucun alınması hedeflenmektedir.

2.5.1. Üreaz Aktivite Testi

Üreaz aktivitesi *H. pylori* tanısında en önemli faktörlerden biridir. Üreaz aktivite testi üreaz enziminin bakteri tarafından büyük miktarlarda üretimine ve enzimin üreyi hidrolize ederek CO₂ ve NH₃ açığa çıkartmasına dayalıdır. Antral biyopsi materyallerinde üreaz aktivitesi tayini bakterinin tanısında kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan ticari hızlı üreaz testlerinde biyopsi materyali üre içeren ortama eklendiğinde amonyak salınımı ile artan pH, üreaz besiyerinde renk değişimine yol açmaktadır. Üreaz aktivite testleri bakteri yoğunluğu ile doğru orantılı olarak çalışmaktadır. Üreaz aktivitesi tayininde besiyerleri haricinde yöntemler de mevcuttur. Jel bazlı, kağıt bazlı ve sıvı bazlı olarak ayrılan bu testler besiyerine göre daha hızlı sonuç vermekle beraber duyarlılıkları nispeten düşük kalmaktadır. Duyarlılığın kanayan ülserli ve kısmi gastrektomili hastalarda düşebileceği, aynı zamanda

biyopsi materyalinin alınımında kullanılan forseps ve benzeri aletlerdeki formalin kontaminasyonunun da duyarlılık üzerinde negatif etki yapabileceği bildirilmiştir (101, 102).

2.5.2. *H. pylori* Kültürü

H. pylori'nin keşfinden bu yana kültür metodu rutin olarak yapılmakta olup altın standart olarak kabul edilmektedir. *H. pylori* insan gastrik biyopsi materyallerinden izole edilebilmektedir. Bakterinin kültürünün yapılabilmesi için mikroaerofilik bir ortam ve zengin içeriğe sahip besiyerleri gereklidir. İzolasyon için pek çok madde ve kimyasallar önerilmektedir. Genel olarak at kanlı Columbia agar veya beyin kalp infüzyon sıvı besiyerine betasiklodekstrin ve fetal sığır serumu gibi bakterinin üremesinde pozitif etkisi olan destek maddeleri ilave edilmektedir. *H. pylori*'nin izolasyonu için 35-37°C ve %5-10 CO₂, %80-90 N₂, %5-10 O₂ içeren mikroaerofilik ortamda 3-7 gün inkübasyon gereklidir. Kültür *H. pylori*'nin tanısında en spesifik (özgül) yöntemdir ve optimal koşullar sağlandığında %90'ın üzerinde duyarlılığa ve %100 özgülüğe sahiptir. Kültür sonuçları genel olarak örneğin kalitesi, transport ve sonuçları yorumlama gibi koşullara bağlıdır. *H. pylori*; inkübasyon süresi, mikroaerofilik ortam vb. koşullar sebebi ile kültürü zor bir bakteri olarak kabul edilmektedir. (23, 101, 103, 104).

2.5.3. Histoloji

Histoloji *H. pylori* tanısında enflamasyon varlığı ve derecesi, metaplazi, atrofi, neoplazi gibi mukozaya dair kritik veriler sunar. Hem antrum hem de korpus'tan biyopsi örnekleri alınarak inceleme yapılmalıdır. Altın standart olan güncellenmiş Sydney sınıflandırma sistemine göre beş ayrı alandan biyopsi alınması önerilmektedir. Fakat bu yöntem çok sayıda biyopsi örneği alınmasını gerektirdiğinden çoğu merkez tarafından kullanılmamaktadır. Endoskopi, invaziv ve zaman alan bir prosedürdür ve önerilenden az sayıda biyopsi örneğinin analiz edilmesi *H. pylori* varlığı açısından yanlış negatiflik ile sonuçlanabilir. Biyopsi örneklerinde *H. pylori* saptanmasında genellikle hematoksilen-eozin (HE) boyama kullanılır. HE boyama sonuçsuz kalırsa Warthin-Starry, Giemsa, toluidine mavisi, akridin oranj, McMullen, Genta ve Romanouski gibi boyama yöntemleri veya immün kimyasal yöntemler kullanılabilir (105-107).

H. pylori epitel yüzeyinde, mukus tabakasında ve gastrik bezlerde kıvrık çomak olarak gözükmektedir. Diğer bir *Helicobacter* türü olan *H. heilmanii* de insan midesinde

bulunabilir. Zoonotik enfeksiyonlara neden olan *H. heilmanii* kedi ve köpeklerden bulaşabilmekte ve kronik gastrite yol açabilmektedir. *H. heilmanii* kıvrık olmayıp *H. pylori*'den daha uzun morfolojisi ile histoloji ile kolayca ayırđedilebilmektedir. Örneklerin öznel olarak değeriendirilmesi histolojinin dezavantajlarından biridir, bu da arada kalınan durumlarda sonuçların yorumlayan kişiye göre değışiklik gösterebileceği anlamına gelmektedir. Ayrıca biyopsi örnekleri için invaziv bir işlem olan endoskopi gereklidir. Histolojinin duyarlılık ve özgülüğü *H. pylori* kolonizasyonunun yoğunluğuna ve patoloğun tecrübesine göre değışebilmektedir (106, 108).

2.5.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR az sayıda bakterinin genetik materyallerinden saptanmasına izin veren bir yöntemdir. İnvaziv ve invaziv olmayan işlemlerden elde edilen örnekler PCR ile çalışılabilir. Pek çok tanı yönteminden daha hızlı sonuç vermesinin yanısıra PCR yöntemi, çeşitli bakteriyel genotip saptamalarında, epidemiyolojik çalışmalarda, antibiyotik direnç çalışmalarda, virulans faktörlerinin saptanmasında ve bakteri kopya sayısı belirlenmesi gibi çalışmalarda kullanılabilir. PCR yönteminin dezavantajı ise tedavi sonrası hastaların gastrik mukozasında bulunabilen ölü bakterilerin DNA segmentlerini saptayarak yalancı pozitif sonuç verebilmesidir. *H. pylori*'nin PCR ile moleküler tanısı invaziv ya da invaziv olmayan yöntemlerle elde edilebilen gastrik biyopsi, gastrik sıvı, dışkı, oral boşluk örnekleri vb. örnekler ile mümkündür. Moleküler tanı, transport süresi ve kontaminasyon gibi sebeplerle kültürü yapılamayacak örnekler için uygulanabilir durumdadır (101, 106, 109).

2.5.5. Seroloji

H. pylori'ye karşı oluşmuş çeşitli antikörleri saptayan enzim immünoassay (EIA) tabanlı testler mevcuttur. Bu testler immünoglobulin G (IgG) saptanmasına yönelik olup duyarlılık ve özgüllükleri değışmektedir ve göreceli olarak ucuz ve kolay uygulanabilir testlerdir. Genel olarak çeşitli suşların kompleks antijen varyasyonlarını içeren testler daha yüksek duyarlılık değeriğine sahiptir. Aktif *H. pylori* enfeksiyonu tespitinde kullanılan seroloji testlerinin değeriendirilmesinde önemli olan kritik faktörler enfeksiyonun prevalansı, coğrafya varyasyonları ve çalışılan popülasyonlardır. Sınır (Cut-off) değeriğini spesifik popülasyonlar için belirlemede serolojik testlerin lokal validasyonu önemlidir. Serolojik testler, antibiyotik ve proton pompa inhibitörü tedavisi gören, kanamalı ülser veya mide

atrofisi bulunan hastalarda üre nefes testine bir alternatif olarak kullanılabilir ve *H. pylori* negatif hastaların saptanmasında etkindir. Serolojik testlerin bir dezavantajı ise tedaviden sonra bile antikorların vücutta uzun süre kalmasından dolayı bazı durumlarda yalancı pozitif sonuçlar verebilmesidir. Bu durum *H. pylori* enfeksiyonunun eradikasyonunu konfirme etmesi açısından serolojinin kullanılışılığını kısıtlamaktadır (106, 110).

2.5.6. Üre-Nefes Testi

Üre-nefes testi, oral olarak absorbe edilen ^{13}C veya ^{14}C işaretli ürenin gastrik ortamdaki *H. pylori* tarafından CO_2 ve amonyağa indirgenmesine dayanır. Kana difüze olan $^{13}\text{CO}_2$ veya $^{14}\text{CO}_2$ akciğerler ile solunum yoluyla dışarı verilir ve verilen nefeste saptanabilir. Nefesteki işaretli karbon sinyali düzeyi *H. pylori*'nin kolonizasyon yoğunluğunu belirtir. ^{13}C işaretli üre ^{14}C 'ye göre daha sıklıkla kullanılmaktadır, bunun sebebi ise ^{13}C radyoaktif olmayan zararsız bir izotopdur; çocuklar ve doğurganlık çağındaki kadınlarda kullanılabilir. ^{13}C izotop ölçümü için gaz kromatografi izotop kütle spektrometresi kullanılır, ancak son zamanlarda kızılötesi spektroskopi ve lazer destekli oran analizi gibi ekonomik olarak daha uygun yöntemler geliştirilmiştir. ^{14}C izotop ölçümü ise daha az maliyetli olmakla beraber radyoaktif bir izotop olduğundan çok tercih edilmemektedir. Üre-nefes testi uygulaması kolay bir testtir ve endoskopi gibi invaziv yöntemler gerektirmez. Duyarlılık ve özgüllüğünün %90'ın üzerinde olduğu belirtilmiştir.

Ancak üre-nefes testlerinin tedavi sonrası biyopsi bazlı tanı yöntemlerinden daha fazla pozitif sonuç vermesi gibi durumlarla karşılaşılabilir; bu durum *H. pylori* kolonizasyonunun az olması veya bakterinin dokuda seyrek dağılımı ile açıklanabilir. Diğer üreaz aktivitesine sahip mikroorganizmalar sebebiyle ise yalancı pozitiflik nadirdir. Bununla birlikte ve serolojik tetlerin aksine üre-nefes testi üreaz aktivitesini baskılayıcı etkisi olan proton pompa inhibitörü kullanımı, antibiyotik tedavisi ve korpus baskın gastrit gibi sebeplerden dolayı yalancı negatif sonuçlar verebilmektedir (106, 111-113).

2.5.7. Dışkıda Antijen Testi

Dışkıda antijen testleri üre-nefes testinden sonra piyasaya sürülmüş invaziv olmayan tanı testleridir. İlk üretilen dışkıda antijen testleri poliklonal antikor tabanlı EIA prensibiyle çalışan testlerdir. *H. pylori* tanısında güvenilir sonuçlar vermesiyle birlikte tedavi sonrası dönemde yalancı pozitiflik sebebiyle tartışmalı sonuçlar elde edilebilmektedir. Monoklonal

antikor bazlı dışkıda antijen testleri ise daha yüksek özgüllüğe sahiptir ve poliklonal olanlara göre daha doğru sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Günümüzde *H. pylori* tanısında kullanılan iki tip dışkıda antijen testi (assay) bulunmaktadır: EIA ve immünokromatografik assay (ICA). Her iki test de yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmasına rağmen ICA tabanlı testlerin EIA'ya göre tartışmalı sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Ancak ICA tabanlı testlerin uygulamasının daha kolay olması, hızlı sonuç alınması ve özel ekipman gerektirmeyen testler olması nedeniyle bu testler sıklıkla tercih edilmekte ve özellikle gelişmekte olan ülkeler için iyi bir alternatif oluşturmaktadır (114, 115).

2.6. Tedavi

H. pylori tedavisi genellikle antibiyotik ve antisekretuar ajanların birlikte kullanımına dayanmaktadır. Günümüzde genellikle iki antibiyotik ajan ve bir antisekretuar ajandan oluşan ve üçlü tedavi olarak adlandırılan tedavi yöntemi kullanılmaktadır. Gastrik pH'nın antisekretuar ajanlar ile yükseltilmesi antibiyotiklerin bakterisidal etkisini gösterebilmesi açısından gereklidir. Alternatif olarak daha mekanizmaları tam olarak bilinmese de bazı bitkisel ilaçlar ve probiyotikler de *H. pylori* tedavisinde kullanılmaktadır. Antibiyotik ve antisekretuar ajanların etkisi sadece farmakolojik aktivitelerine bağlı olmayıp farmakokinetik özelliklerinede bağlıdır. Amoksisilin, klaritromisin, levofloksasin, metronidazol, tetrasiklin, rifabutın ve bizmut içeren bileşikler gibi pek çok antimikrobiyal ajan *H. pylori* tedavisinde kullanılmakta olup antisekretuar ajan olarak genellikle proton pompa inhibitörleri (PPI) kullanılmaktadır (116).

2.6.1. Antimikrobiyal Ajanlar

Klaritromisin, levofloksasin, metronidazol veya tetrasiklin, rifampisin gibi *H. pylori* tedavisinde kullanılan antimikrobiyal ajanların etkisi plazmadaki konsantrasyonlarına dayalıdır. Bazı antimikrobiyal ajanların ise etkisi zamana, yani plazmadaki konsantrasyonunun minimum inhibisyon konsantrasyonundan daha yüksek olduğu süreye bağlıdır. Bizmut içeren bileşiklere direnç düşüktür ancak suda iyi çözünmezler ve düşük derece absorpsiyon meydana gelir bundan dolayı etkilerini gastrointestinal sistemde lokal olarak iyi gösteremezler. Tedavide sıklıkla kullanılan klaritromisin ve metronidazol antibiyotiklerinden klaritromisine olan direncin klaritromisin tedavisindeki başarıyı %66, klaritromisin içeren üçlü tedavide ise %13 azalttığı bildirilmiştir. Metronidazole olan direnç

metronidazol tedavisindeki başarıyı %38, metronidazol içeren üçlü tedavide ise %14 azalttığı bildirilmiştir. Amoksisilinde ise direncin diğer antibiyotiklere göre daha az görüldüğü belirtilmiştir (117, 118).

H. pylori tedavisinde direnç önemli sorunlardan biridir ve 2017 yılında dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından ilaca dirençleri nedeniyle insan sağlığını tehdit eden en ciddi 20 patojen arasında listelenmiştir(119).

H. pylori'de antibiyotik direncini sağlayan mekanik ve biyolojik özelliklere olan ilgi son zamanlarda tedavilerde kullanılan antibiyotik ajanlara direnç gelişmesiyle giderek artmıştır. Penisilin bağlayan proteinlerde (PBP) değişiklik, *pbp1A* geninde nokta mutasyonları, membran geçirgenliğinde azalma amoksisilin direncinin ana mekanizmalarıdır. Klaritromisin için direnç 23S rRNA geninde gelişen nokta mutasyonları ile oluşmaktadır. Levofloksasine dirençli suşlarda ise DNA giraz enzimini kodlayan *gyrA* geninde nokta mutasyonları tespit edilmiştir. Metronidazole dirençli suşlarda oksijene duyarlı olmayan NADPH nitroredüktaz enzimini kodlayan *rdxA* geninde null mutasyonlar saptanmıştır. NADPH flavin oksiredüktazı kodlayan *frxA* geni ve ferredoksin benzeri ezimleri kodlayan *fdxB* geni de metronidazol direncinde rol oynamaktadır Rifabutin için ise *rpoB* genindeki mutasyonlar direnç sağlamaktadır ve ek olarak rifabutin ile rifampin arasında çapraz direnç görüldüğü belirtilmiştir (116, 120, 121).

2.6.2. Antisekretuar ajanlar

Antisekretuar ajanlar gastrik parietal hücrelerin kanalikül membranında bulunan hidroklorik asit sekresyonunda görevli olan gastrik asit pompalarını (H^+/K^+ATPaz) inhibe ederek gastrik pH'yı yükseltme mekanizmasıyla çalışır. Düşük pH değerlerinde, PPI'ler protonlanır, sonra tetrasiklik sülfonamid oluşturmak için siklizasyona uğrar. Bu şekilde H^+/K^+ATPaz 'ın α subunitesindeki sisteinlere geri dönüşümsüz olarak bağlanıp H^+/K^+ATPaz 'ın inhibe olmasını sağlar böylelikle pH yükselir. PPI'ler arasında rabeprazol en etkin PPI'lerden biridir. Omeprazol, lansoprazol ve pantoprazol etkinlikte rabeprazolü takip etmektedir (122).

2.6.3. Probiyotikler

Probiyotikler konağa yararlı olan ve oral olarak alınan canlı mikroorganizmalardır. Son yıllarda *H. pylori* tedavisinde probiyotik kullanımı aktif bir araştırma konusu olmuştur. *Saccharomyces boulardii* ve bazı *Lactobacillus* cinsi çeşitli probiyotikler tedavide antibiyotik ajanlarla kombine olarak da kullanılmaktadır. *H. pylori* eradikasyon oranında bir değişim olmamasına karşın standart üçlü tedaviye göre tedaviyle birlikte *S. boulardii* kullanılan olgularda antibiyotik kaynaklı ishal oranında önemli ölçüde azalma saptanmıştır. Aynı etki *Lactobacillus* cinsi çeşitli probiyotikler için de belirtilmiştir. Fermente edilmiş süt bazlı probiyotiklerin kapsül bazlı probiyotiklere göre *H. pylori* eradikasyonunda %5-%15 daha etkili olduğu belirtilmiştir. Bu durumun süt bazlı probiyotiklerin laktoferrin ve glikomakropeptidler gibi *H. pylori*'yi inhibe edici özellikleri olabilecek bazı molekülleri içermesinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (116, 123).

2.7. Korunma ve Aşı

H. pylori enfeksiyonu genellikle çocukluk çağında edinilen ve tedavi edilmediği takdirde ömür boyu kronik olarak seyreden bir enfeksiyondur. Bir milyardan fazla insanın *H. pylori* ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Çocukluk çağında bulaş genellikle ebeveynlerden kaynaklanmaktadır. Bu sebeple sanitasyon kuralları hakkında bilgilendirme ve gastrik şikayeti bulunan ebeveynlerin *H. pylori* varlığı açısından kontrol edilmesi önemlidir. Temiz su kaynağı kullanılması, emzirme ve yemek hazırlama öncesi el yıkama gibi faktörlerin korunma açısından önemli olduğu bildirilmektedir (124).

Günümüzde *H. pylori* kolonizasyonunun eradikasyonu ve spesifik olarak mide kanseri ile ilişkili hastalıklara karşı korunma sağlanması için bir aşuya ihtiyaç duyulmaktadır. Sürdürülen çalışmalarda pek çok farklı antijen ve adjuvan kombinasyonları ile çalışılmasına rağmen fare modellerinde *H. pylori* kolonizasyonunu tamamen ortadan kaldıran bir immünizasyon sağlanamamış olmakla birlikte fare modeli çalışmalarda *H. pylori* kolonizasyonu açısından mütevazî azalmalar gözlenmiş olup bu konuda çalışmalar devam etmektedir (125).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Araştırmaya İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalına ve Bezmialem Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Protetik Diş Tedavisi Anabilim Dalına başvuran 200 hastanın çıkarılan dental protezleri dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan 200 hastanın sabit dental protezlerinin 40'ı İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesine başvuran hastalardan, 160'ı ise Bezmialem Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'ne başvuran hastalardan alınmıştır. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından (Dosya no: 2017/730, Tarih: 23/06/2017-12 sayılı toplantı) onaylanmıştır.

3.2. Gereçler

3.2.1. PCR Deneyi Gereçleri

3.2.1.1. Örneklerin Toplanması için Kullanılan Gereçler

- Steril eküvyon çubuğu
- Ependorf
- -80°C derin dondurucu

3.2.1.2. DNA İzolasyon Kiti

DNA izolasyonu için QIAamp® UCP Pathogen Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır.

- QIAamp UCP mini spin kolonları
- Toplama tüpleri (2 ml)
- Tüp uzatıcılar (3 ml)
- Elüsyon tüpleri (1,5 ml)
- ATL tampon çözeltisi
- APL2 tampon çözeltisi
- APW1 tampon çözeltisi
- APW2 tampon çözeltisi
- AVE tampon çözeltisi
- Proteinaz K

FASTA:>NR_044761.1 *Helicobacter pylori* strain ATCC 43504 16S ribosomal RNA, partial sequence
 TTTATGGAGAGTTTGTATCCTGGCTCAGAGTGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAT
 GAAGCTTCTAGCTTGTCTAGAGTGTCTGATTAGTGGCGCACGGGTGAGTAACGCATAGGTCATGTGCCTCTT
 AGTTTGGGATAGCCATTGGAAACGATGATTAATACCAGATACTCCCTACGGGGGAAAGATTTATCGCTAA
 GAGATCAGCCTATGTCCTATCAGCTTGTGGTAAGGTAATGGCTTACCAAGGCTATGACGGGTATCCGGC
 CTGAGAGGGTGAACGGACACACTGGAAGTGAACGCTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA
 TATTGCTCAATGGGGGAAACCTGAAGCAGCAACGCCGCGTGGAGGATGAAGGTTTTAGGATTGTAAACT
 CCTTTTGTAGAGAAGATAATGACGGTATCTAACGAATAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCG
 GTAATACGGAGGGTGAACGCTTACTCGGAATCACTGGGCGTAAAGAGCGCGTAGGCGGGATAGTCAGTC
 AGGTGTGAAATCCTATGGCTTAACCATAGAAGTGCATTTGAACTACTATTCTAGAGTGTGGGAGAGGTA
 GGTGGAATTCTTGGTGTAGGGGTAAAATCCGTAGAGATCAAGAGGAATACTCATTGCGAAGGGCGACCTGC
 TGGAACATTACTGACGCTGATTGCGCGAAAGCCTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCAC
 CCCATAACGATGGATGCTAGTTGTTGGAGGGCTTAGTCTCTCCAGTAATGCAGCTAACGCATTAAGCAT
 CCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATTAAAACCTCAAAGGAATAGACGGGGACCCGCAAGCGGTGGAG
 CATGTGGTTTAAATTCGAAGATACACGAAGAACCCTTACCTAGGCTTGACATTGAGAGAATCCGCTAGAAAT
 AGTGGAGTGTCTAGCTTGTAGACCTTGAACACAGGTGCTGCACGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGCTGAGA
 TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTTCTTAGTTGCTAACAGGTTATGCTGAGAAGTCTA
 AGGATACTGCCTCCGTAAGGAGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGCCTAGGG
 CTACACACGTGCTACAATGGGGTGCACAAAGAGAAGCAATACTGTGAAGTGGAGCCAATCTTCAAAAACAC
 CTCTCAGTTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCAAATCAGCC
 ATGTTGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACTCACCGCCCGTCACACCATGGGAGTTGTGTTTGCCTT
 AAGTCAGGATGCTAAATTGGCTACTGCCACGGCACACACAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAA
 CCGTAGGTGAACCTGCGGCTGGATCACCTCCTT

Şekil 1: ATCC 43504 *Helicobacter pylori* 16S rRNA gen dizisi.

3.2.1.3. Real-time PCR Kiti

Real-time PCR deneyi için Microbial DNA qPCR Assay Kit (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır. Qiagen, Microbial DNA qPCR Assay kitlerinde, belirttiği üzere bakteri tür tanımlamalarında 16S rRNA gen dizisini (Şekil 1) kullanmaktadır.

- Microbial DNA qPCR assay
- Pozitif PCR kontrol assay
- Microbial DNA pozitif kontrol
- Microbial qPCR mastermiks
- DNA içermeyen su

3.2.1.4. PCR Cihazı

Real-time PCR için Rotor Gene Q cihazı (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır.

3.2.1.5. Mikrosantrifüj Cihazı

Micromax SM3593 (Thermo IEC, ABD) santrifüj cihazı kullanılmıştır.

3.2.2. Biyofilm Deneyi Gereçleri

3.2.2.1. Besiyerleri

- **Maya özütü ve beta-siklodekstrin eklenmiş beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri (Oxoid, ABD)**

- Beyin infüzyon katıları 12,5 gr
- Sığır kalp infüzyon katıları 5 gr
- Proteoz pepton 10 gr
- Glikoz 2 gr
- Sodyum klorür 5 gr
- Disodyum fosfat 2,5 gr
- Maya özeti 4 gr
- Beta- siklodekstrin 10 gr

Hazır toz halindeki beyin kalp infüzyon besiyerinden 37 gram tartılmış ve 4 gram maya özütü ve 10 gram beta-siklodekstrin eklenip 1 litre distile suda çözülerek pH değeri 7,4'e ayarlanmıştır. 121°C'de 1 atm basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

- **Defibrine at kanlı Columbia agar**

- **Columbia agar (Becton Dickinson, ABD)**

- Proteoz pepton 15 gr
- Karaciğer özütü (*Liver digest*) 2,5 gr
- Maya ekstraktı 5 gr
- Sodyum klorür 5 gr
- Agar 12 gr

Hazır toz halindeki besiyerinden 40 gr tartılmış ve 1 litre distile su içerisinde çözümlenerek pH değeri 7,3'e ayarlanmıştır. 121°C'de 1 atm. basınç altında 15 dakika otoklavda sterilize edildikten sonra besiyeri oda ısısında 50°C'ye kadar soğutulmaya bırakılıp %5 steril defibrine at kanı eklendikten sonra Petri kutularına dökülmüştür.

3.2.2.2. Kontrol Suş

Çalışmamızda kontrol suş olarak *Helicobacter pylori* ATCC 43504 kullanılmıştır.

- **Anaerop Jar (Oxoid, ABD)**

Standart suş *Helicobacter pylori* ATCC 43504'ün çoğaltılabilmesi için anaerop jarlar kullanılmıştır.

- **GasPak Kitleri (Becton Dickinson, ABD)**

%5-10 O₂, %5-10 CO₂ ve %80-90 N₂ içeren mikroareofilik ortam sağlanması amacıyla GasPak kitleri kullanılmıştır.

3.2.2.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi Gereçleri

- **Dental Protezlerde Kullanılan Baz Materyal Kuponları**

Krom-kobalt, krom-nikel, dental porselen, akrilik, titanyum, zirkonyum ve polistren maddelerinden 1 cm çapında kuponlar kestirilip taramalı elektron mikroskopisi için hazırlanmıştır.

- **Altı Kuyucuklu Doku Kültür Plağı**

Her bir kuyucuk çapı 3,48 cm ve kuyucuk hacimleri 16,8 ml olan 6 kuyucuklu doku kültürü plağı kullanılmıştır.

- **Taramalı Elektron Mikroskobu**

Elektron mikroskobu ile görüntülü incelemede FEI Quanta FEG 250 ESEM (ThermoFisher, ABD) SEM Cihazı kullanılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2: FEI Quanta FEG 250 ESEM elektron mikroskobu.

- **SEM Kaplama Cihazı**

Elektron mikroskopisi için yapılan kaplamada Polaron SC7640 (Quorum, İngiltere) kaplama cihazı kullanılmıştır.

3.3. Yöntemler

3.3.1. Dental Protezlerde Real-time PCR Yöntemi ile *H. pylori* Araştırılması

3.3.1.1. Dental Protezlerden Örnek Alımı ve Homojenizasyonu

Sabit dental protezli hastalardan çıkarılan protezlerden ilk olarak steril eküvyon yardımı ile protezlerin iç yüzeylerinden örnekler alınmıştır. Alınan örnekler, içerisinde steril serum fizyolojik bulunan ependorf tüplerine aktarılmıştır. Örnekler -80°C 'de DNA ekstraksiyon işlemine kadar saklanmıştır.

3.3.1.2. Ekstraksiyon

PCR yönteminde hedeflenen *H. pylori* 16S rRNA gen bölgelerinin ekstraksiyonu için QIAamp® UCP Pathogen Mini Kit (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır.

3.3.1.3. Ön Muamele Protokolü

Steril eküvyon çubuğu yardımı ile alınan örnekler eküvyon çubuğunun ucu kesilip ependorf tüplere koyularak üzerlerine üretici firmanın önerileri doğrultusunda 500 µl ATL tampon çözeltisi eklenmiştir. Tüpler termal çalkalayıcı (“thermoshaker”)’da 56°C’de 10 dakika 600 rpm’de inkübasyona bırakılıp inkübasyon sonrası yeni ependorf tüplere aktarılmıştır.

3.3.1.4. DNA Ekstraksiyon Protokolü

Ön muamelesi yapılmış olan örnekler 40 µl proteinaz K eklendikten sonra 10 saniye vorteksenerek 56°C’de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işleminden sonra 200 µl APL2 tampon çözeltisi eklenip 15-30 saniye vorteksenerek iyice karışması sağlanıp 70°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir.

Elde edilen lizata 300 µl etanol eklenip 15-30 saniye boyunca vorteksenerek iyice karışması sağlanmıştır. Son hali 600 µl olan karışım 2 ml’lik bir toplama tüpü içinde olan QIAamp UCP mini spin kolonuna aktararak 8000 rpm’de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj işleminden sonra QIAamp UCP mini spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktararak filtrat içeren eski toplama tüpü atılmıştır.

Yeni toplama tüpüne aktarılan QIAamp UCP mini spin kolona 600 µl APW1 tampon çözeltisi eklenip 8000 rpm’de 1 dakika santrifüjlendikten sonra UCP mini spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarılıp filtrat içeren eski toplama tüpü atılmıştır. UCP mini spin kolona 750 µl APW2 tampon çözeltisi eklenip 14000 rpm’de 3 dakika santrifüjlendikten sonra QIAamp UCP mini spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarılıp filtrat içeren eski toplama tüpü atılmıştır.

QIAamp UCP mini spin kolon, tampon çözelti kalıntılarında arındırılmak için ekleme yapılmadan 14000 rpm’de 1 dakika santrifüjlendikten sonra yeni bir toplama tüpüne aktarılıp kapağı açık halde 56°C’de 3 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonu takiben UCP mini spin kolon 1,5 ml’lik elüsyon tüpüne aktarılıp 20-100 µl AVE tampon çözeltisi UCP mini spin kolon membranının ortasına gelecek şekilde eklendikten sonra oda sıcaklığında 1 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyondan sonra UCP mini spin kolon 14000 rpm’de 1 dakika santrifüjlenerek tekrar 1,5 ml’lik elüsyon tüpüne aktarılıp 20-100 µl AVE tampon çözeltisi UCP mini spin kolon membranının ortasına gelecek şekilde eklendikten sonra oda sıcaklığında 1 dakika

inkübasyona bırakılmıştır. Son inkübasyonu takiben UCP mini spin kolon 14000 rpm’de 1 dakika santrifüjlenerek DNA elde edilmiştir.

3.3.1.5. Real-time PCR

Real-time PCR işlemi için *Helicobacter pylori* “Microbial DNA qPCR Real-time PCR kit” (Qiagen, Almanya) kullanılmıştır. -80°C’de saklanmış olan DNA ekstraktları ve mastermiks buz üzerinde (4°C’de) çözündürülmüştür ve yavaşça pipetlenerek karıştırılmıştır. PCR işlemine başlamadan önce elde edilen DNA ekstraktlarının konsantrasyon ve saflığının kontrol edilmesi amacıyla absorbans ölçüm işlemleri yapılmıştır. Mikrobiyal DNA pozitif kontrol, DNA içermeyen su ile 10 kat dilüe edilerek çalışmaya hazır hale getirilmiştir.

Her bir örnek için üretici firmanın önerileri doğrultusunda pozitif PCR kontrol, mikrobiyal DNA qPCR ile mikrobiyal DNA pozitif kontrol, negatif kontrol ve DNA ekstraktı olmak üzere 4 reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Çalışılacak örneğin reaksiyon karışımı kuyucuk başına 12,5 µl mikrobiyal qPCR mastermiks, 1µl mikrobiyal DNA qPCR assay, 5 ng genomik DNA örneği ve DNA içermeyen su ile 25 µl’ye tamamlanmıştır.

Reaksiyon karışımları her kuyucuğa 20 µl olacak şekilde PCR paneline eklendikten sonra ısı koruyucu film (Rotor Disc Heat-Sealing Film) ile kaplanıp Rotor-Gene Q PCR cihazına yüklenmiştir.

Tablo 1: Eşik ve başlangıç için önerilen değerler.

Parametre	Ayarlar
Dinamik tüp (Dynamic tube)	Açık
Eğim düzeltme (Slope correct)	Açık
Ignore first	5
Take off adj.	15 / 20
Eşik değeri (Threshold)	0.02
Önceki döngüleri ortadan kaldır (Eliminate cycles before)	10

3.3.1.6. Döngü Aşamaları

Başlangıç PCR aşaması eşik ve başlangıç değerleri ayarlanarak (Tablo 1), 95°C’de 10 dakika olacak şekilde bir döngü, denatürasyon 95 °C’de 15 saniye olacak şekilde 40 döngü ve bağlanma ve uzama ise 60 °C’de 2 dakika olacak şekilde 40 döngü olarak tamamlanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2: PCR döngü aşamaları.

Adım	Zaman	Sıcaklık	Döngü Sayısı
PCR başlangıç adımı	10 dk.	95 °C	1
2 Aşamalı Döngü:			
Denatürasyon	15 sn.	95 °C	40
Bağlanma ve uzama	2 dk.	60 °C	40

3.3.1.7. Geçersiz Sonuç Prosedürü

Hesaplanan CT değerlerine göre geçersiz sonuç elde edilen reaksiyonlar için 6 reaksiyon karışımı daha hazırlanarak deney tekrarlanmıştır (Tablo 3).

İlk reaksiyon karışımı olarak 12,5 µl mikrobiyal qPCR mastermiks, 1 µl mikrobiyal DNA qPCR assay ve 25 µl’ye tamamlanacak şekilde DNA içermeyen su, ikinci reaksiyon karışımı olarak 12,5 µl mikrobiyal qPCR mastermiks, 1 µl mikrobiyal DNA qPCR assay, mikrobiyal DNA pozitif kontrol ve 25 µl’ye tamamlanacak şekilde DNA içermeyen su, üçüncü reaksiyon olarak DNA ekstraktı, dördüncü reaksiyon olarak 10x DNA ekstraktı, beşinci reaksiyon karışımı olarak 12,5 µl mikrobiyal qPCR mastermiks, 1 µl mikrobiyal DNA qPCR assay, DNA ekstraktı ve 25 µl’ye tamamlanacak şekilde DNA içermeyen su, altıncı reaksiyon karışımı olarak ise 12,5 µl mikrobiyal qPCR mastermiks, 1 µl mikrobiyal DNA qPCR assay, 10x DNA ekstraktı ve 25 µl’ye tamamlanacak şekilde DNA içermeyen su eklenerek real-time PCR deneyi hazırlanıp daha önce belirtilmiş olan çalışma esaslarına göre gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3: Geçersiz sonuç prosedürü reaksiyonları.

Reaksiyon	Deney	Örnek
1	Microbial DNA qPCR Assay	DNA içermeyen su (NTC)
2	Microbial DNA qPCR Assay	Mikrobiyal DNA pozitif kontrol
3	Pozitif PCR kontrol	DNA ekstraktı
4	Pozitif PCR kontrol	10x DNA ekstraktı
5	Microbial DNA qPCR Assay	DNA ekstraktı
6	Microbial DNA qPCR Assay	10x DNA ekstraktı

3.3.1.8. Veri Analizi

Veri analizinde ΔCT metodu kullanılmıştır. Negatif kontrol ile PCR yaparak üst (upper) CT değeri ve alt (lower) CT değeri hesaplanmıştır.

alt (lower) CT değeri (pozitif) = NTC - 6

üst (upper) CT değeri (negatif) = NTC - 3

Sonuç değeri; CT değeri alt CT değeriyle üst CT değeri arasında bulunduğu deney tekrarlanmıştır.

3.3.1.9. İstatiksel Analiz

- **Örneklem büyüklüğünün hesaplanması**

Örneklem büyüklüğü Güven Aralığı: %95 olacak şekilde $n = t_{2pq} / d^2$ formülü (p:0,15 d:0,05) ile hesaplanarak çalışmaya 200 hasta dahil edilmiştir.

- **Verilerin istatiksel analizi**

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile incelenmiştir. Sürekli değişkenler ortalama±standart sapma ya da medyan(minimum:maksimum) değerleriyle ifade edilmiştir. Kategorik değişkenler ise n (%) ile ifade edilmiştir. İstatistiksel analizler için SPSS (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) programı kullanılmış olup $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.3.2. Biyofilm Çalışması

H. pylori bakterisinin biyofilm oluşturma potansiyelinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) yardımıyla gösterilmesi amacıyla dental protezlerin baz materyalleri olan krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum, dental seramik, akrilikte biyofilm deneyleri yapılmıştır. Ayrıca deneylerde kontrol amacıyla polistren maddesi kullanılmıştır (126).

3.3.2.1. Kontrol Suşunun Üretilmesi

Çalışmada *H. pylori* kültürü, besiyelerinin kontrolü ve biyofilm deneylerinde *H. pylori* ATCC 43504 suşu kontrol suşu olarak kullanılmıştır. Standart suşları çoğaltmak için defibrine at kanlı Columbia agar ve maya özeti ve beta-siklodekstrin katkılı beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri kullanılmıştır (103).

H. pylori ATCC 43504 suşu %5 defibrine at kanlı Columbia agara ekilmiştir. Ekim yapılan besiyeleri 37 °C’de, mikroaerofil bir ortam sağlayan GasPak kiti ile birlikte anaerop kavanoz içinde 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Çoğaltılan *H. pylori* ATCC 43504 kontrol suşu ekim yapılan besiyelerinden maya özeti ve beta-siklodekstrin katkılı beyin kalp infüzyon sıvı besiyerine inokule edilmiştir.

3.3.2.2. Kupon Parça Hazırlıkları

Dental protez laboratuvarında protez baz materyalleri olan krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum, dental seramik, akrilik ve polistren maddelerinden 1x1 cm büyüklüğünde kupon parçalar kestirilerek deney için hazırlanmıştır.

3.3.2.3. Kupon Parçalarının Sterilizasyonu

Belirtilen kupon parçaları sterilizasyon için önce deterjan ve önceden ısıtılmış distile su karışımında 30 dakika hafifçe karıştırıldıktan sonra kalıntı deterjanı uzaklaştırmak için beş kere saf su ile durulanmıştır. Isıya duyarlı olmayan krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum dental seramik materyalleri alüminyum folyo ile sarılıp 121 °C’ de 15 dakika, ısıya duyarlı olan akrilik materyali ise 80 °C’ de 20 dakika otoklav yardımı ile steril hale getirilmiştir (127).

3.3.2.4. Kupon Parçalarının Doku Kültür Plaklarına Yerleştirilmesi

Steril hale getirilen krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum, dental seramik, akrilik ve polistren kuponların her biri ayrı bir kuyucuğa olmak üzere doku kültür plaklarına yerleştirilmiştir. Bakteri yoğunluğu 10^7 CFU/ml olacak şekilde ayarlanan maya özeti ve beta-siklodekstrin katkılı beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri doku kültür plaklarına kuyucuk başına 5 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Doku kültür plakları mikroaerofilik ortamda 37 °C' de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır (128).

3.3.2.5. Kupon Parçalarının Fiksasyonu

İnkübasyon sonrasında krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum dental seramik, akrilik ve polistren materyal kuponları fiksasyon için %2'lik glutaraldehit çözeltisinde 2 saat bekletildikten sonra fosfat tamponu ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra kuponlar sırasıyla %50, %75, %95, %100'lük etanol ile 15 dakikalık muameleler ile dehidrasyon işlemi tamamlanmıştır. Dehidrasyon işlemi tamamlanan kuponlar desikatörde çalışma zamanına kadar saklanmıştır (128).

3.3.2.6. Kupon Parçaların Kaplanması

İşlemleri biten krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum dental seramik, akrilik ve polistren kuponlar Polaron SC7640 cihazıyla platin kaplama yapılarak taramalı elektron mikroskopisi için hazır hale getirilmişlerdir.

3.3.2.7. Taramalı Elektron Mikroskopi Görüntülerinde Skorlama

Taramalı elektron mikroskopi sonuçları değerlendirilirken *H. pylori* açısından bir yoğunluk değeri belirlenebilmesi için skorlama yapılmıştır. Bu amaçla mikroskopta taranan alan, bakterinin morfolojisi, tekil veya topluluk halinde görülmesi, kapladığı yüzey alanı gibi kriterler göz önüne alınarak tablo 4'te gösterildiği şekilde az yoğunundan çok yoğununa doğru 1 ila 5 arasında skorlama kriterleri oluşturulmuştur.

Tablo 4: SEM sonuçları için kullanılan skarlama.

Skor	Açıklama (Kriterler)
1	Az yoğunlukta ve tekil
2	Az yoğunlukta ve küçük topluluklar halinde
3	Orta yoğunlukta ve büyük topluluklar halinde
4	Yüksek yoğunlukta ve yüzeyin büyük bir bölümünü kaplamış şekilde
5	Yüksek yoğunlukta ve yüzeyin tamamını kaplamış şekilde

4. BULGULAR

4.1. Hastalara Ait Özellikler

Dental protezi çalışmaya alınan 200 hastanın 103'ü erkek, 97'si kadın ve yaş ortalaması 53,9 olarak saptanmıştır. Hastaların günlük diş fırçalamaları incelendiğinde %41'i günde 1 kez, %54,5'i günde 2 kez ve %4'ü günde 3 kez fırçaladıklarını, %0,5'i ise hiç fırçalamadığını belirtmiştir. Hastaların %48'i (96) sigara kullandığını belirtmiş ve günlük tüketilen medyan sigara sayısı 10 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmaya alınan 200 hastanın protezlerinin çıkarılmadan ortalama 7 sene boyunca kullandığı saptanmıştır (Tablo 5).

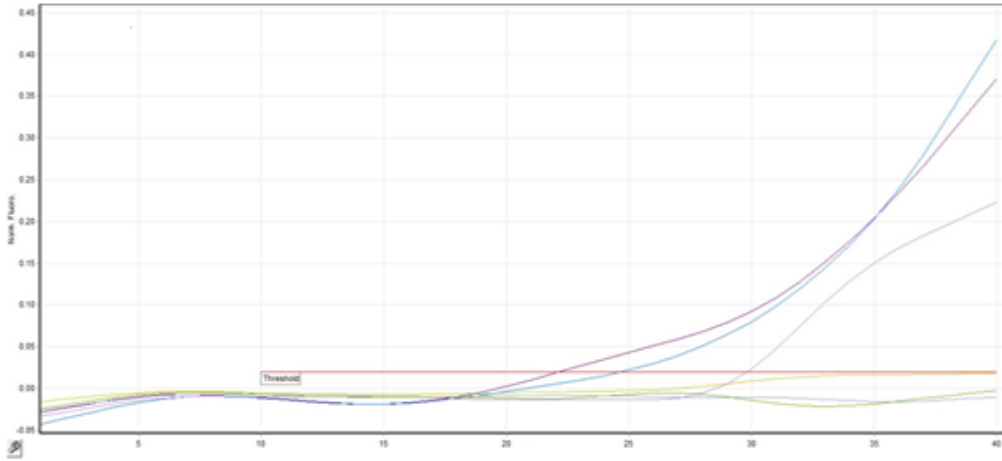
Tablo 5: Çalışmaya katılan hastalara ait özellikler (n:200).

Yaş	Yaş Ortalaması 53,9 (36:72)*
Cinsiyet	n (%)
<i>Kadın</i>	97 (%48,5)
<i>Erkek</i>	103 (%51,5)
Alkol Kullanımı	
<i>Evet</i>	36 (%18)
<i>Hayır</i>	164 (%82)
Alkol Kullanım Sıklığı	
<i>2 günde 1 kez</i>	1 (%2,87)
<i>Haftada 1 kez</i>	32 (%88,89)
<i>Haftada 2 kez</i>	3 (%8,33)
Sigara Kullanımı	
<i>Evet</i>	96 (%48)
<i>Hayır</i>	104 (%52)
Diş Fırçalama	
<i>Hiç fırçalamayan</i>	1 (%0,5)
<i>1 kez</i>	82 (%41)
<i>2 kez</i>	109 (%54,5)
<i>3 kez</i>	8 (%4)
Protez Kullanma Süresi	Yıl 7 (1:21)*

*Ortalama (minimum:maksimum) olarak ifade edilmiştir.

4.2. Real-time PCR Sonuçları

PCR ile 200 hastadan 19'u *H. pylori* açısından pozitif bulunmuştur (Şekil 3). PCR pozitif hastaların 12'si kadın 7'si erkek ve yaş ortalamaları 54,3'tür. Toplam 30 hasta yanma, reflü, ekşime ve ağrı gibi mide şikayetleri olduğunu belirtmiştir, bu 30 hastanın 2'si PCR pozitif olarak tespit edilmiştir. Pozitif hastaların protezlerinin çıkarılmadan ortalama 7,8 sene kullanıldığı saptanmıştır.



Şekil 3: Real-time PCR ile *H. pylori* saptanan örneklere ait eğriler.

Tablo 6: PCR pozitif hastaların özellikleri.

Yaş	Mide Şikayeti	Alkol Kullanım Sıklığı	Günlük Sigara Kullanımı (adet)	Düzenli Kullanılan İlaç	Protez Kullanım Süresi (Yıl)	Günlük Diş Fırçalama Sayısı	Kopya Sayısı (kopya/µl)
48	Gastrit	-	-	-	14	1	1037
46	-	-	-	Astım	4	2	220
70	-	-	10	Tansiyon	7	1	40239
54	-	-	20	-	6	2	4545
62	-	Haftada 1	10	-	6	2	738
44	-	-	-	Guatr	7	2	22405
45	-	-	20	-	11	2	292
47	-	-	-	-	2	1	1372
65	Reflü	-	8	Tansiyon	21	1	61253
35	-	-	-	-	2	3	109
38	-	Haftada 1	10	-	5	2	7113
59	-	-	20	Tansiyon	7	2	14545
71	-	-	-	Tansiyon	10	3	2294
70	-	Haftada 1	20	-	8	2	1402
52	-	-	10	Tansiyon	8	2	54
66	-	-	-	-	7	2	86
58	-	Haftada 2	20	Tansiyon	9	1	1051
52	-	-	20	Tansiyon	10	1	482
49	-	-	-	Diyabet	6	2	1812

H. pylori pozitif saptanan hastaların 11'i, sigara kullandığını ve günlük ortalama 15,3 sigara tükettiklerini bildirmişlerdir. Pozitif bulunan 19 hastanın 7'si tansiyon, 1'i astım, 1'i diyabet ve 1'i guatr olmak üzere 10 hasta kronik hastalıkları nedeniyle düzenli ilaç kullandıklarını belirtmişlerdir.

PCR pozitif bulunan 19 hastada kopya sayıları incelendiğinde, 7'si <1.000 kopya/μl, 8'i 1.000 ila 10.000 kopya/μl arası, 4'ü ise >10.000 kopya/μl olarak saptanmıştır. En düşük değer 54 kopya/μl bulunurken en yüksek 61.253 kopya/μl'dir (Tablo 6).

4.3. Biyofilm Çalışması Sonuçları

H. pylori'nin biyofilm oluşturma potansiyelinin taramalı elektron mikroskobu yardımıyla gösterilmesi amacıyla dental protezlerin baz materyalleri olan krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, titanyum dental seramik, akrilik ve polistren maddelerinde biyofilm çalışması yapılmıştır. Çalışmamızda kullanılan dental protez materyallerinde SEM verilerinin değerlendirilmesinde kullanılan skorlama kriterlerine (Tablo 4) göre elde edilen bulgular tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: Çalışmaya dahil edilen maddelerin taramalı elektron mikroskopi sonuçları.

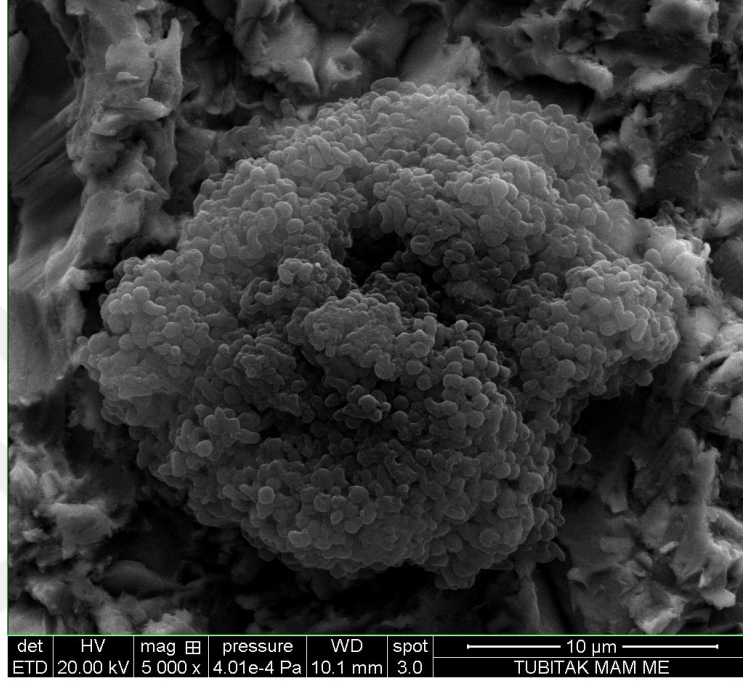
Maddeler	Skor	Notlar
Dental Seramik	5	Tüm yüzeyde tabaka halinde
Titanyum	4	Yüzeyin büyük bir kısmında tabaka halinde
Zirkonyum	2	Az sayıda, küçük gruplar halinde
Akrilik	2	Az sayıda, küçük gruplar halinde
Krom-Kobalt	2	Az sayıda, genellikle deforme
Krom-Nikel	1	Az sayıda, tekil, genellikle deforme
Polistren	3	Tabaka halinde değil, topluluklar halinde

Buna göre en yüksek *H. pylori* yoğunluğu (skor 5) dental seramik materyelinde, en düşük yoğunluk (skor 1) ise krom-nikel materyelinde saptanmıştır. Dental seramikten sonra *H. pylori*'nin en yoğun (skor 4) saptandığı materyal titanyumdur. Polistren materyelinde orta yoğunlukta (skor 3), krom-kobalt, zirkonyum ve akrilik materyallerinde ise düşük yoğunlukta (skor 2) gözlenmiştir (Tablo 7).

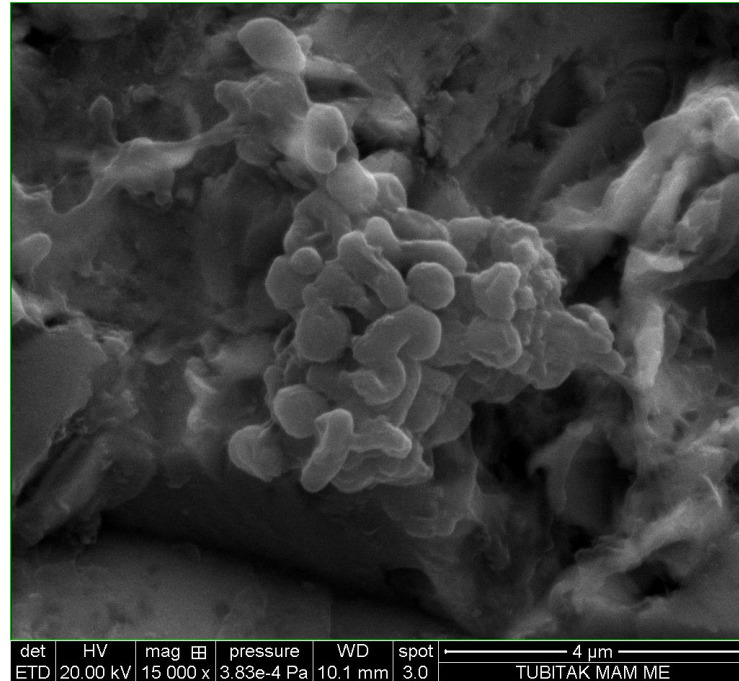
4.3.1. Dental Protez Baz Materyallerinde Taramalı Elektron Mikroskopi Sonuçları

4.3.1.1. Krom-Kobalt

Taramalı elektron mikroskopisi sonucunda krom-kobalt materyalinde *H. pylori*, taranan alanlarda az yoğunlukta, hem tekil hem topluluklar halinde saptanmış olup, çomak formdan kok forma dönüş belirtileri gözlenmiştir (Şekil 4, 5).



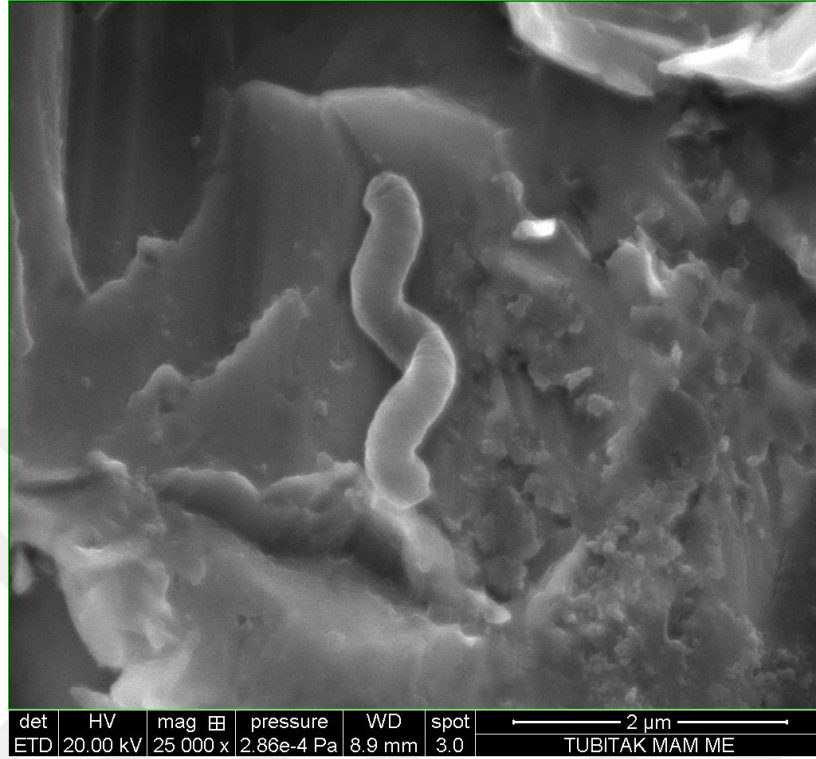
Şekil 4: Krom-Kobalt maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.



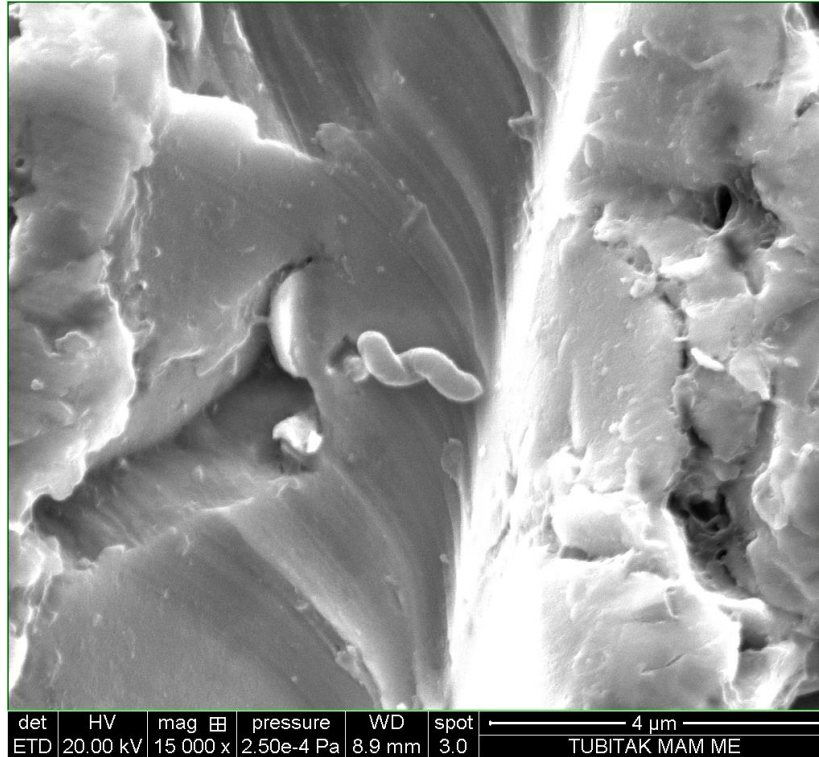
Şekil 5: Krom-Kobalt maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.

4.3.1.2. Krom-Nikel

Krom-nikel materyalinde *H. pylori*, taranan alanlarda az yoğunlukta, genellikle tekil ve deforme halde saptanmıştır (Şekil 6, 7).



Şekil 6: Krom-Nikel maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.



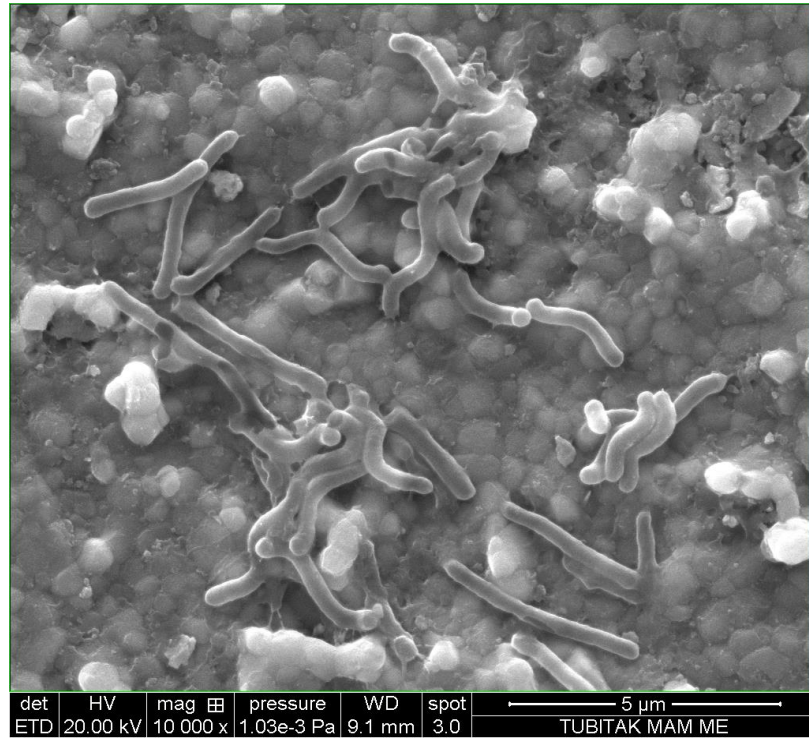
Şekil 7: Krom-Nikel maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.

4.3.1.3. Zirkonyum

Zirkonyum materyalinde *H. pylori*, taranan alanlarda az yoğunlukta ve genellikle küçük gruplar halinde saptanmış olup çomak formdan kok forma dönüş belirtileri gözlenmiştir (Şekil 8, 9).



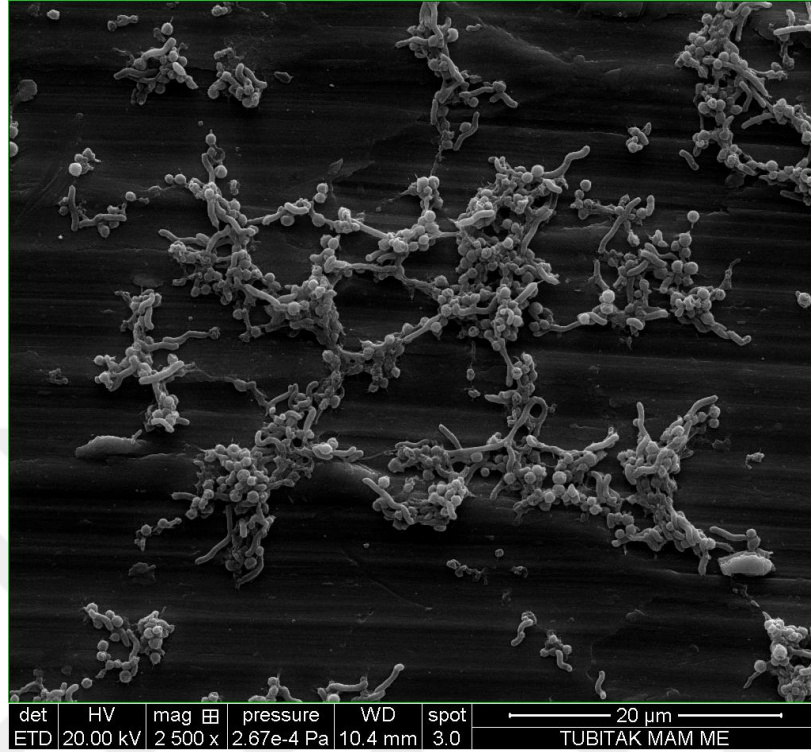
Şekil 8: Zirkonyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.



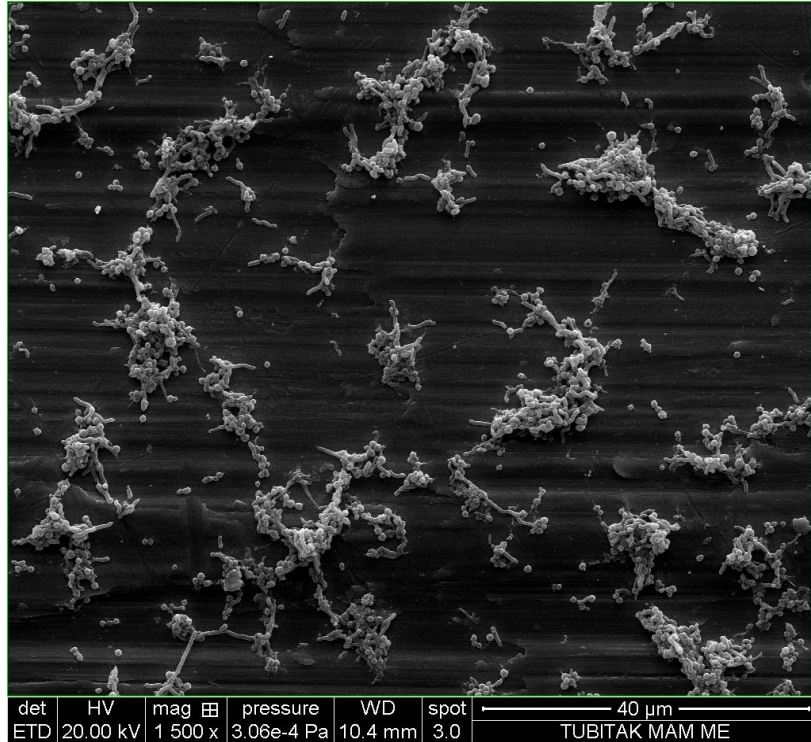
Şekil 9: Zirkonyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.

4.3.1.4. Titanyum

Titanyum materyalinde *H. pylori*, taranan alanlarda yüksek yoğunlukta, çomak ve kok form beraber ve yüzeyin büyük bir bölümünü kaplamış şekilde gözlenmiştir (Şekil 10, 11).



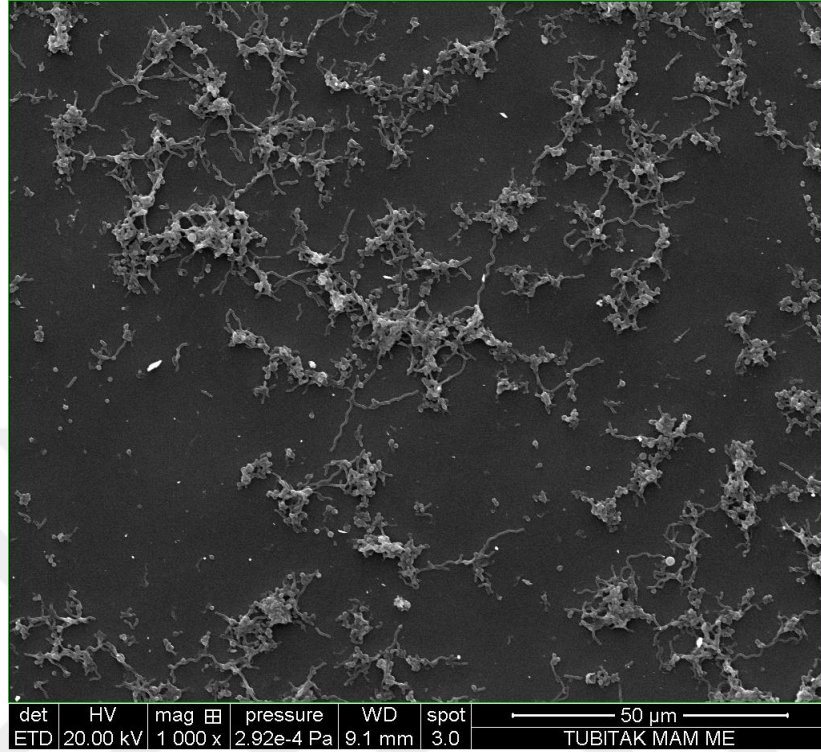
Şekil 10: Titanyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.



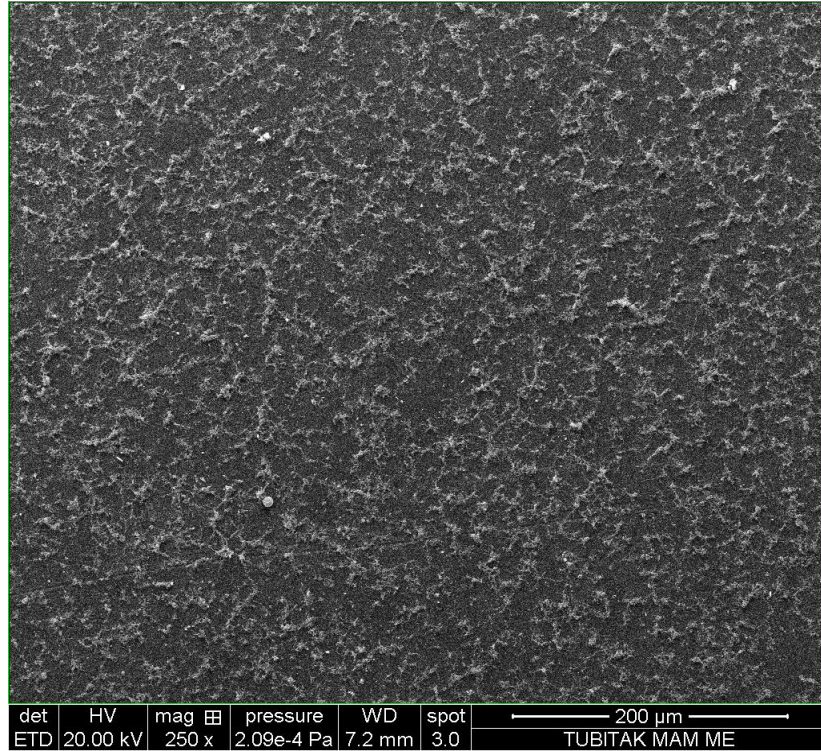
Şekil 11: Titanyum maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.

4.3.1.5. Dental Seramik

Dental seramik materyalinde *H. pylori*, taranan alanlarda yüksek yoğunlukta, çomak ve kok form beraber ve tüm yüzeyi kaplamış şekilde gözlenmiştir (Şekil 12, 13).



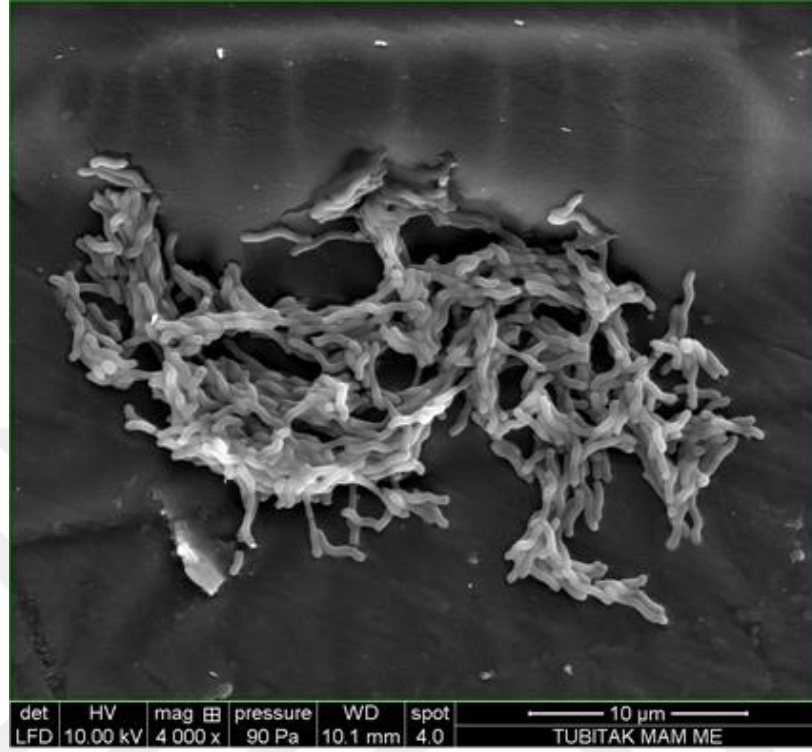
Şekil 12: Dental seramik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.



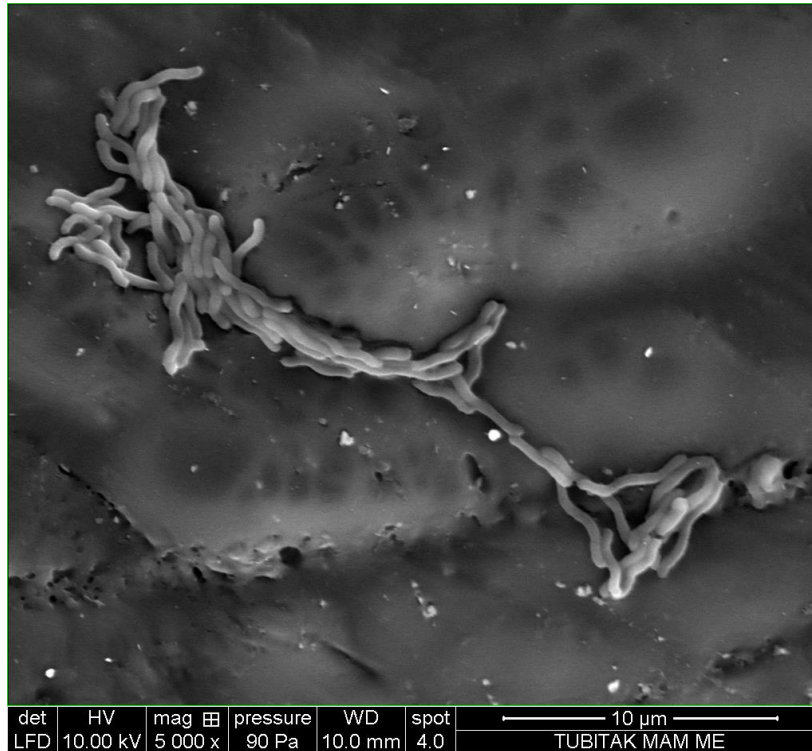
Şekil 13: Dental seramik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.

4.3.1.6. Akrilik

Akrilik materyalinde *H. pylori*, taranan alanlarda az yoğunlukta saptanmış olup, genellikle tekil ve az sayıda küçük gruplar oluşturmuş şekilde gözlenmiştir (Şekil 14, 15).



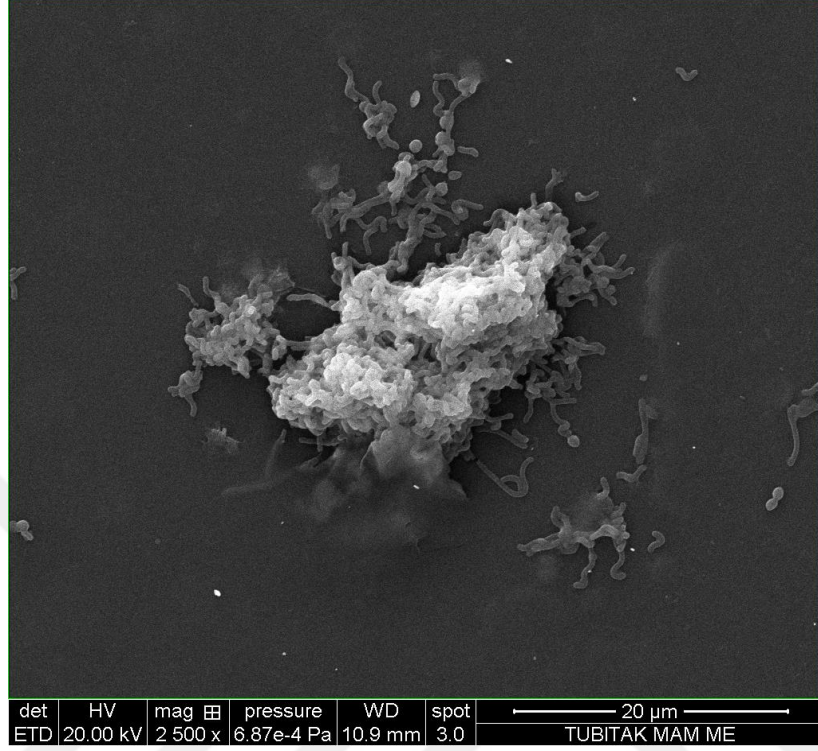
Şekil 14: Akrilik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.



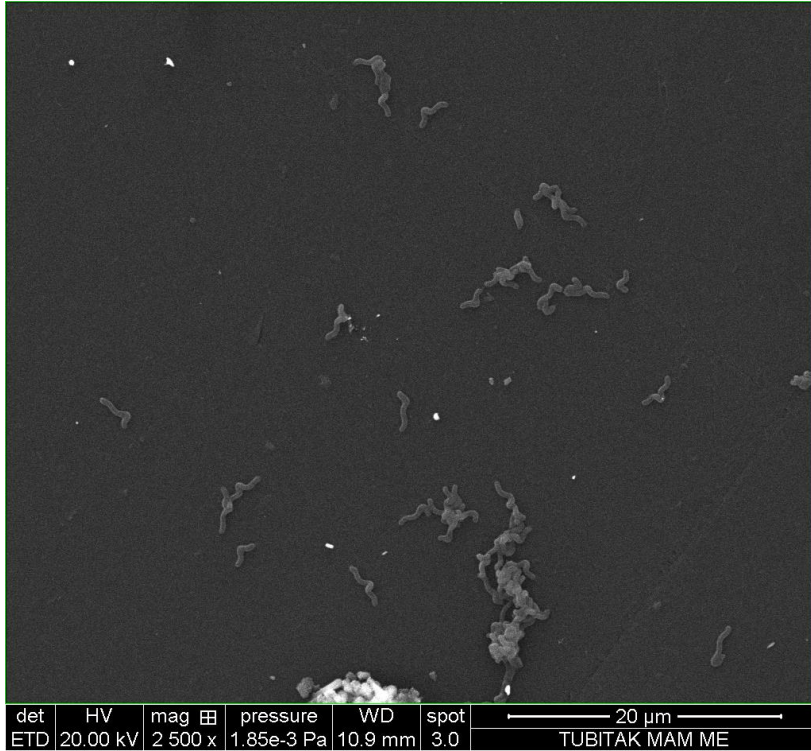
Şekil 15: Akrilik maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.

4.3.1.7. Polistren

Polistren materyalinde *H. pylori*, taranan alanlarda orta yoğunlukta, tüm yüzeyi kaplamayan, tekil ve büyük gruplar halinde gözlenmiştir (Şekil 16, 17).



Şekil 16: Polistren maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.



Şekil 17: Polistren maddesi taramalı elektron mikroskopi görüntüsü.

5. TARTIŞMA

Helicobacter pylori dünyada en sık rastlanan enfeksiyon etkenlerinden biridir. Dünya nüfusunun yarısından fazlası enfekte olup en yüksek prevalans gelişmekte olan ülkelerdedir (129). *H. pylori* enfeksiyonu esas olarak yaşamın erken dönemlerinde edinilir ve tedavi edilmezse genellikle ömür boyu sürer. *H. pylori* enfeksiyonlarının kronik gastrit, peptik ülser, mide adenokarsinomu ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması gibi çeşitli gastroduodenal hastalıkların gelişmesinde rol oynadığının kesinleşmesi ile birlikte bu bakterinin tanısı, tedavisi ve bulaşma yollarını araştıran çalışmalar önem kazanmıştır (2).

İnsandan insana bulaşmanın oral-oral gastrik-oral veya fekal oral yolla gerçekleştiği düşünülmektedir. Bakterinin (ve DNA'sının) diş plağı ve tükürükte saptanmasının oral-oral yolla bulaşma olasılığını artırdığı belirtilmektedir (23). Bakteri, kolonizasyon için özel koşullara ihtiyaç duymakta ve bu koşullar diş plağında, diş eti ve periodontal ceplerde sağlanabilmektedir (3).

H. pylori'nin oral kavitede diş plağında, tükürükteki varlığı ve bu durumun peridontal enfeksiyonlar, gastrik enfeksiyon, reenfeksiyon ve tedaviye etkisi birçok araştırmacının ilgisini çeken bir konu olmuş ve bu konudaki çalışmalar giderek artmıştır.

1980'li yılların sonlarında yapılan çalışmalarda *H. pylori*'nin tükürükten izole edilememesi nedeniyle tükürüğün *H. pylori* için bir rezervuar veya bulaşma aracı olarak gösterilemeyeceği ancak bu durumun mevcut kültür ve izolasyon yöntemlerinin yetersiz olmasından kaynaklanabileceği (130), buna ek olarak oral örneklerden yapılan *H. pylori* kültüründeki zorlukların konvansiyonel yöntemlerle kültürü yapılamayan *H. pylori*'nin canlı kokoid formunun varlığıyla ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (131).

Sonraki yıllarda PCR yönteminin kullanıldığı bazı çalışmalardan elde edilen bulgulara göre *H. pylori*'nin tükürükte ve ağızda farklı bölgelerde rastgele ve geçici olarak bulunabileceği, bunun kalıcı kolonizasyondan daha çok gastrik reflüden kaynaklanabileceği (132, 133) ve oral kavitenin *H. pylori* enfeksiyonu için bir rezervuar olarak kabul edilemeyeceği (133, 134) bildirilmiştir.

Mide kolonizasyonundan bağımsız olarak ağızda *H. pylori* varlığına ilişkin çelişkili verilerin bulunması nedeniyle, oral kavitenin *H. pylori* enfeksiyonu ve bulaşması için ekstra gastroduodenal bir rezervuar olduğuna dair kuşku sona ermemiş ve bu konudaki tartışmalar ve çalışmalar devam etmiştir.

Song Q ve ark. (135) farklı kişilerden alınan oral örneklerde ve aynı bireylerde farklı oral lokasyonlar ve mide biyopsileri arasında *H. pylori* DNA'larında sekans farklılıkları olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar ağız boşluğunun *H. pylori* için kalıcı bir rezervuar olabileceğini ve aynı anda birden fazla *H. pylori* suşunu barındırabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Burgers ve ark. (136) mide biyopsisi ve biyopsi yapılan hastalara ait oral örnekleri eşzamanlı *H. pylori* varlığı açısından incelemişler ve *H. pylori*'nin mide kolonizasyonundan bağımsız olarak ağız boşluğunda bulunabileceğini bildirmişlerdir. Silva ve ark. (137) ise Brezilya'da dispepsi semptomları olan ve *H. pylori* pozitifliği saptanan hastaların ağız boşluğunda *H. pylori* ve *cagA* genlerinin varlığını tespit etmek amacıyla tükürük, diş plağı ve mide biyopsi örneklerini nested PCR ile inceledikleri çalışmalarında *H. pylori* DNA'sı ve *cagA* genini biyopsi, tükürük ve diş plak örneklerinde sırasıyla; %100 ve %43,3, %53,3 ve %43,8, %36,6 ve %27,3 oranlarında semptom göstermeyen kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır. Hem oral hem de biyopsi örneklerinde *H. pylori* DNA sekansları ile tükürük veya diş plağı DNA'sı arasında %98'e varan bir uyum olduğunu ve diş plağı ve tükürüğün, mide hastalığı olan bireylerde *H. pylori* ve *cagA* pozitif *H. pylori* için geçici rezervuar görevi görebileceğini ileri sürmüşlerdir.

Tükürük ve gastrik biyopsi örneklerinde eş zamanlı *H. pylori* taraması yapan Roman-Roman ve ark. (138), tükürük ve biyopsi materyallerindeki *H. pylori* genotiplerinin hastaların %51,1'inde uyumlu olduğunu tespit etmişler ve tükürüğün *H. pylori*'nin bulaşmasında ve reenfeksiyonunda rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir. Benzer şekilde Bharath (139) ve ark. da gastrik enfeksiyon geçirmekte olan hastaların supragingival plaklarında, hızlı üreaz testi ve real-time PCR yöntemi ile *H. pylori* tespit etmişler ve bu hastaların gastrik mukoza ve supragingival plaklarında eş zamanlı olarak bulunan *H. pylori* kökenlerinin aynı olduğunu bildirmişlerdir.

Oral kavitenin *H. pylori* kolonizasyonu için ikincil bir bölgeyi temsil ettiğine dair görüşler giderek artmış ancak (140) PCR ile alınan pozitif sonuçların ölü bakteri DNA'sı olduğu, PCR pozitif örneklerden alınan kültür negatif sonuçların da bunu desteklediği, mide reflüsü ile oral kaviteye yerleşen *H. pylori*'nin ağız boşluğundaki yüksek oksijen konsantrasyonu nedeniyle yalnızca birkaç saat canlı kalabileceği gibi karışık görüşler de ortaya atılmıştır.

Oral *H. pylori*'nin saptanmasının oldukça karmaşık olduğu; ağız boşluğunda *Streptococcus*, *Haemophilus* spp. ve *Actinomyces* spp. dahil olmak üzere üreaz oluşturan

birçok bakterinin bulunması nedeniyle oral örneklerde üreaz aktivitesinin saptanmasının *H. pylori* varlığını gösterdiği gibi bir sonuca götürmesinin uygun olmadığı; kıvrık çomak şeklindeki *H. pylori* morfolojisinin, *Treponema spp.* de dahil olmak üzere spiroketlerin bulunduğu oral örnekler için histolojik boyama yöntemlerinin özgülüğünü düşürdüğü; özgülüğü yüksek olan kültür yönteminin, bakterinin üretilmesi güç olan kokoid formlarının oluşma potansiyeli nedeniyle başarı oranının düşük olduğu ve bu nedenlerle farklı bulguların büyük ölçüde oral *H. pylori* için kullanılan farklı ve uygunluğu tartışılabilir tespit yöntemlerine dayandığı bildirilmiştir (131). PCR yönteminin kullanıldığı çalışmalarda alınan farklı sonuçların ise kullanılan farklı primer setlerine bağlı olabileceği gösterilmiştir (141, 142).

Konuyla ilgili açık tartışma araştırmacıları, *H. pylori* enfeksiyonlarının başarılı bir şekilde eradikasyonundan sonra önemli ölçüde azalmaması ve nüks oranının yüksek oluşu sebebiyle oral *H. pylori*'nin mide enfeksiyonunun nüks etmesinde rol oynayıp oynamadığı ile ilgili detaylı çalışmalara itmiştir (143).

2011 yılında yayımlanan bir meta analiz çalışmasında, klinik ve/veya histolojik gastroözofageal hastalıkları olan hastaların ağız boşluğundaki *H. pylori* prevalansı (%44,8), ülseri olmayan dispepsili hastalar veya sağlıklı kontrollere (%13,2) göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuş, *H. pylori*'nin ağız boşluğunda bulunması ile mide enfeksiyonu arasında yakın bir ilişki olduğu, ağız boşluğundaki *H. pylori*'nin eradikasyonunun mideden daha zor olduğu ve reenfeksiyon kaynağı olabileceği vurgulanmıştır (144).

Wang XM ve ark. (143), 2014 yılında yayımladıkları araştırmalarında oral kavitede bulunan *H. pylori*'nin canlı olmaması durumunda midedeki enfeksiyonun eradikasyonu üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmayacağı düşüncesinden yola çıkmışlar ve çalışmalarını mide enfeksiyonunun eradikasyonundaki başarı oranı ile ağız boşluğundaki *H. pylori* varlığının ilişkisini ortaya koymak üzere mide ağrısı olan 159 semptomatik ve 118 asemptomatik bireyde gerçekleştirmişlerdir. Gastrik reflüsü olmayan ve üre nefes testi negatif olan hastaların ağız boşluğunda antijen testleri, PCR ve kültür yöntemleriyle *H. pylori* 'yi saptayan araştırmacılar *H. pylori*'nin oral ve mide enfeksiyonu arasında yakın bir ilişki olduğunu ve oral *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinin, mide enfeksiyonunun eradikasyonundaki başarı oranını %61,33'ten %82,26'ya yükselttiğini bildirmişlerdir.

Son çalışmalarda, periodontal hastalık ve diş plağında gelişen *H. pylori* kolonizasyonu arasında pozitif korelasyon tespit edildiğinden söz edilmektedir. Periodontal tedavinin gastrik *H. pylori* enfeksiyonu için etkili bir yardımcı tedavi olup olmadığını netleştirmek amacıyla

gastrik *H. pylori* enfeksiyonu için periodontal tedavi ile birlikte eradikasyon tedavisinin, tek başına eradikasyon tedavisine karşı etkilerinin değerlendirildiği ve farklı tedavi gruplarında uzun süreli takipte tekrarlamama oranlarının karşılaştırıldığı Ren ve ark.'na (145) ait sistematik derlemede periodontal tedavinin *H. pylori* eradikasyonunun etkinliğini ve gastrik *H. pylori*'nin tekrarlamama oranını artırabileceği bildirilmiştir.

Li X ve ark. (146) da 2021 yılında yayımlanan çalışmalarında benzer şekilde periodontitisli hastaların periodontitisi olmayan bireylere göre gastrik *H. pylori* için daha fazla riske sahip olduğunu göstermişler ve klinisyenlerin periodontitisli hastalarda, özellikle de gastrik *H. pylori* enfeksiyonu riski yüksek olanlar için tedavilerinin yanı sıra düzenli olarak 'iyi ağız hijyeni uygulamaları' yapmalarını önermişlerdir.

Tüm bu çalışmaların yanında, oral boşluğun farklı bölgelerinin farklı bakteri türlerinin üremesini desteklediğinin gösterilmesi, ayrıca ağız içinde *H. pylori* tarafından tercih edilen belirli bir ortamın tanımlanmamış olması (142); oral kavitede *H. pylori* için enfeksiyon/reenfeksiyon için kaynak olabilecek tükürük, diş plağı, vb. dışında başka bir niş olabileceğini düşündürmüştür ve bunun araştırılması fikrini doğurmuştur. Böylelikle, literatürde araştırıldığına rastlamadığımız sabit dental protezlerin iç yüzeylerinin *H. pylori* için bir rezervuar olabileceği hipotezinden yola çıkılarak çalışmamızın ilk aşaması gerçekleştirilmiştir. PCR halen oral *H. pylori*'yi test etmek için en etkili yöntem olarak bildirildiğinden (142, 145) çalışmamızda kopya sayısının da saptanabilmesi sebebiyle real-time PCR yöntemi kullanılmış ve çalışmaya dahil edilen 200 hastaya ait dental protezlerin %9,5'inin iç yüzeylerinde *H. pylori* varlığı gösterilmiştir.

Literatür araştırmamıza göre çalışmamız dental protezlerde *H. pylori* araştıran ilk çalışma özelliğindedir ve protezlerin iç yüzeylerinde *H. pylori*'nin yaşam alanı bulabildiğini göstermiştir.

Tez projesi kapsamında yapılan bu çalışmada dental protezleri incelenen hastalarda bütçe nedeniyle eş zamanlı olarak gastrik *H. pylori* araştırılmaması çalışmanın bir kısıtlılığını oluşturmakla birlikte çalışmamızın bu aşamasında elde edilen bulgular hem dental protezler hem de midede aynı suşun varlığının araştırılacağı sonraki çalışmalara ışık tutacak özelliktedir.

Diğer yandan oral hijyen ve sigara kullanımı gibi bazı alışkanlıklar ile aktif *H. pylori* enfeksiyonu arasında ilişkiyi araştıran çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ülkemizde yapılan ve *H. pylori* pozitifliği %78,8 bulunan bir çalışmada genel ağız sağlığını temsil edebilecek bir

sınıflama olan basitleştirilmiş oral hijyen indeksinin gastrik *H. pylori* kolonizasyonu ile birlikteliği araştırılmış ve oral hijyeni ideal olan bireylerde gastrik *H. pylori* pozitifliğine daha az oranda rastlandığı bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada üst gastrointestinal sistem hastalıkları ile oral hijyen indeksi arasındaki birlikteliğe dair bir analiz yapılmamıştır (74).

Oral hijyenin yanı sıra sigara kullanımının da *H. pylori* enfeksiyonu ve tedavisinde etkileri olduğu düşünülmektedir. Itskoviz ve ark. (147) sigara kullanımının birinci basamak tedavi başarısızlığı olasılığını anlamlı şekilde artırdığını bildirmişlerdir.

Zheng ve ark. (148) periodontal hastalık, oral mukozal hastalık ve diş çürükleri gibi oral problemler açısından incelenen, ve *H. pylori* taraması gerçekleştirilen 55669 sağlıklı kişinin % 46,97'sinde *H. pylori* saptamışlar ve olasılıkla diş plağı nedeniyle diş tartarı ve gevşek dişlerin *H. pylori* enfeksiyonuyla ilişkili olduğunu ve düzenli sigara ve alkol tüketiminin gastrik mukozaya zarar verebileceğini, bu sebeple *H. pylori* enfeksiyonuna daha açık olabileceklerini bildirmişlerdir.

H. pylori sigara, alkol ve oral hijyen arasındaki ilişkiye yönelik olarak bizim çalışmamızda hastalara ait sigara ve alkol kullanımı ve oral hijyen açısından diş fırçalama özellikleri araştırılmıştır. Çalışmamızda *H. pylori* pozitif bulunan 19 hastanın 11'inin (%57,9) sigara kullandığı, günlük diş fırçalama sayısı ortalamasının 1,78 olduğu ve 4'ünün (%21) haftada en az 1 kez alkol tükettiği, *H. pylori* negatif bulunan 181 hastanın ise 85'inin (%46,9) sigara kullandığı günlük diş fırçalama sayısı ortalamasının 1,6 ve 32'sinin (%17,7) haftada en az 1 kez alkol tükettiği öğrenilmiştir. Bu açıdan incelendiğinde sonuçlarımıza göre *H. pylori* pozitif ve negatif saptanan grup arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Ancak bu durum, hastaların kendileri ile ilgili verdiği bilgilerin doğruluğu veya bilgi vermede çekingen tavır göstermesi, hasta popülasyonu sayısı gibi farklı nedenlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu konuda yapılacak daha fazla ve bu açıdan iyi planlanmış çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızın ikinci aşamasında, dental protezlerin baz malzemelerini oluşturan akrilik, dental seramik, titanyum, krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum ve ayrıca kontrol olarak polistren materyallerinde *H. pylori*'nin biyofilm oluşturma potansiyeli değerlendirilmiştir. Araştırmamız, yaptığımız literatür taramasına göre dental protezlerde *H. pylori* varlığını araştıran ilk çalışma olduğu gibi aynı zamanda protez materyallerinde *H. pylori*'nin oluşturduğu biyofilmin araştırıldığı ve elektron mikroskopuyla gösterildiği ilk çalışmadır.

İnsan mide mukozasında biyofilm oluşturan *H. pylori*'nin fotografik dokümantasyonu Carron ve ark. (149), tarafından biyopsi materyallerinin elektron mikroskobu ile taranması sonucu ortaya konmuştur. Araştırmacılar, *H. pylori* pozitifliği saptanan mide biyopsi örneklerinde epitel yüzeylerde oluşmuş olgun biyofilmleri göstermişlerdir. Ardından Cammora ve ark. (150), *H. pylori*'nin biyofilm oluşturmalarının klinik önemini gösteren çalışmalarında en az dört kez *H. pylori* eradikasyonu için tedavi olup başarısızlığa uğramış hastaların gastrik biyopsilerinde SEM analizi gerçekleştirmiş, bu hastaların tümünde *H. pylori*'nin gastrik mukoza yüzeyinde biyofilm oluşturduğu ve ancak biyofilm tabakası yok edildiğinde başarılı bir eradikasyon sağlandığını ortaya koymuştur.

H. pylori'nin biyofilm oluşturma potansiyelinin gösterilmesini takiben oral kavitede biyofilm oluşturabilme potansiyelinin varlığı, bu durumun önemi ve hangi yüzeylerde biyofilm oluşturabileceği de ilgi çekici konular haline gelmiştir. Yapılan çalışmalarda *H. pylori*'nin çeşitli yüzeylerde biyofilm oluşturabildiği ve bu biyofilm oluşturma potansiyelinin antimikrobiyal maddeler ve diğer dış etkenlerden, ayrıca konak savunma mekanizmalarından koruma gibi bakterinin hayatta kalması için elzem olan şartları oluşturduğu belirtilmiştir (149, 151).

Azevedo ve ark. (127) çeşitli sürelerle suya maruz bırakılan paslanmaz çelik 304 ve 316, bakır, polivinil klorür (PVC), polipropilen ve cam materyallerinde SEM ile *H. pylori*'nin adezyon yeteneğini araştırmışlar ve tüm materyallerin yüzeyinde *H. pylori*'nin kolonize olduğunu, bakır ve polipropilenin en yüksek sayıda adere bakteri sayısına sahip olduğunu, *H. pylori*'nin tesisatta kullanılan materyallere adezyon gösterebileceğini ve bunun su ile bulaşa yol açabileceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Chow ve ark. (128) SEM ile *H. pylori*'nin yeşil soğan, lahana, marul ve ıspanak sebzelerinde biyofilm oluşturma yeteneğini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda *H. pylori*'nin diğer kontaminant bakteriler ile beraber sebzelerin yüzeyinde biyofilm oluşturabileceğini göstermişler ve *H. pylori*'nin gastrik ortam dışında canlı kalabileceğini, biyofilm tabakasından dolayı geleneksel temizlik yöntemleriyle bakterilerin elimine edilmesinin zorlaşması sebebiyle su ve yiyeceklerin bulaş kaynağı olabileceğini bildirmişlerdir.

Teughels ve ark. (152) mikroorganizmaların epitel dokuya adere olduğunu ancak oral epitel dokunun hızlı dökülme özelliğinin etkin bir savunma mekanizması olarak görev yaptığını buna karşın diş, takma diş, oral protez gibi dökülmenin olmadığı yüzeylerin biyofilm tabakası oluşması için olanak yarattığını belirtmişlerdir.

Literatürde *H. pylori*'nin oral kavitede biyofilm oluşturmaya yönelik kısıtlı veri bulunmaktadır. Bu sebeple bilimsel literatüre bu alanda da katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışmamızda elektron mikroskopu yardımıyla farklı dental protez materyalleri üzerinde *H. pylori*'nin biyofilm oluşturma potansiyeli gösterilmiştir.

Günümüzde dental protezler çoğunlukla dental seramik, zirkonyum, akrilik, titanyum, krom-kobalt, krom-nikel gibi baz materyallerden oluşmaktadır. Dental protezlerin ağız boşluğunda tükürüğün ulaştığı ancak diş fırçasının ulaşmadığı her yüzey potansiyel kolonizasyon alanı olarak değerlendirilebilir. Bu nedenle diş fırçasının ulaşmadığı fakat tükürük geçişinin sağlandığı yüzeyler olarak titanyum, krom-kobalt, krom-nikel, zirkonyum, akrilik gibi materyaller potansiyel kolonizasyon alanı sağlayabilirler (153, 154).

Persson ve ark. (155) peri-implantitisli 166 hasta ve 47 sağlıklı kişinin birer implant örneğinde DNA-DNA "checkerboard" hibridizasyon yöntemiyle yaptıkları 79 türün incelendiği mikrobiyota araştırmasında *H. pylori*'nin de dahil olduğu 19 farklı türü yüksek oranda saptamışlardır. Araştırmacılar bu sonuçlara dayanarak titanyum implantların kompleks biyofilm oluşumu için uygun bir ortam olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Aynı yöntemle işlenmiş titanyum, döküm titanyum ve zirkonyum materyallerinde 38 bakteri türünün adezyonunun incelediği başka bir çalışmada her üç materyalde de çeşitli bakteriler tarafından kolonizasyonun saptandığını ve zirkonyumda, işlenmiş ve döküm titanyumdan daha az bakteri sayısı bulunduğunu belirtmişlerdi (156).

Scarano ve ark. (157) da genel olarak bakteriler açısından saf titanyumun zirkonyum oksite göre daha yüksek kolonizasyon potansiyeline sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Sanchez ve ark. (158) dental implant yüzeylerinde altı standart suş (*Streptococcus oralis*, *Actinomyces naeslundii*, *Veillonella parvula*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) ile biyofilm modelleri üzerine yaptıkları çalışmalarında zirkonyum yüzeylerdeki biyofilm tabakasının titanyum yüzeylere göre daha ince olduğunu ve zirkonyum yüzeylerde biyofilm tabakasının kapladığı alanın titanyum yüzeylere oranla daha az olduğunu bildirmişlerdir. Al-Radha ve ark. (159) titanyum ve zirkonyum dental implantlarda *Streptococcus mitis* ve *Prevotella nigrescens* ile yaptıkları çalışmalarında zirkonyum ve zirkonyum kaplanmış titanyumun adezyonu azaltma açısından titanyuma üstün etki gösterdiğini saptamışlardır.

Bizim çalışmamızda da SEM analiziyle diğer bakterilerde olduğu gibi ve diğer araştırmacılarla uyumlu olarak titanyumdaki *H. pylori* yoğunluğu yüksek (skor 4) olarak

belirlenmiş ve yüzeyin büyük bir kısmında tabaka halinde görüntülenmiştir. Zirkonyumda ise bu yoğunluk daha düşük (skor 2) olarak belirlenmiş ve yüzeyde az sayıda ve küçük gruplar halinde gözlemlenmiştir.

Dental protezlerde genellikle diş kaplaması olarak kullanılan dental seramik materyali ve *Streptococcus gordonii* ve *Streptococcus mutans*'in kullandığı iki ayrı biyofilm çalışmasında seramik materyalinde biyofilm oluşumu gösterilmiştir (160, 161).

Bizim çalışmamızda da en yüksek *H. pylori* bakteri yoğunluğu (skor 5) tüm yüzeyde ve tabaka halinde dental seramik materyalinde gözlemlenmiştir.

Ülkemize yurtdışına göre ekonomik nedenlerden dolayı daha sık kullanılan krom-kobalt materyalinde ise Malthora ve ark. (162) metal implant materyallerinde biyofilm ve bakteriyel adezyon konulu çalışmalarında en yüksek adezyonun sırasıyla polietilen, titanyum, paslanmaz çelik, trabeküler metal ve en düşük olarak krom-kobalt olarak belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da krom-kobalt ve krom-nikel materyallerinde *H. pylori* yoğunluk olarak düşük ve az sayıda (skor olarak sırasıyla 2 ve 1) saptanmıştır.

Oilo ve ark. (163) akrilik ve benzeri polimer yapıdaki materyallerin yapılarındaki por ve defektler sebebiyle biyofilme yol açabileceğini ve bu sebeple biyofilm tabakasını ortadan kaldırmada zorluklar yaşanabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda akrilik materyalde *H. pylori* yoğunluğu düşük (skor 2) saptanmıştır. Kontrol olarak kullanılan polistren materyalinde ise, *H. pylori* yoğunluğu orta düzeyde (skor 3) değerlendirilmiş ve tabaka halinde değil topluluklar halinde gözlemlenmiştir.

Biyofilm çalışmamız için gerçekleştirdiğimiz ön deneylerde *H. pylori*'nin spiral formunu saptayabilmek için farklı inkübasyon süreleri denenmiştir. İlk olarak kupon parçaları beta-siklodekstrin ve maya özütü içerikli sıvı besiyerinde 1 hafta inkübasyona bırakılmış ancak deney sonrasında yapılan SEM analizinde bakteri yoğunlukla kok formunda görülmüştür. Bu nedenle inkübasyon süresi 4 gün olarak uygulanmış ve *H. pylori*'nin spiral formları görüntülenebilmiştir.

Çalışmamızın önemli kısıtlılıklarından biri sınırlı bütçe nedeniyle başta planlandığı şekilde dental protezlerdeki *H. pylori* varlığı ve gastrik enfeksiyon ilişkisini güçlendirecek dışkıda antijen testinin çalışma grubuna uygulanamamış olmasıdır. Ayrıca dental protez örneklerindeki PCR pozitifliği direkt olarak oral *H. pylori* kolonizasyonunu göstermekten ziyade kolonizasyonu gösteren pek çok bulgudan sadece biri olarak düşünülmelidir. SEM analiz sonuçları ise çeşitli materyallerde in vitro olarak biyofilmin gösterilmesi için bir yol

gösterici olarak algılanmalı ve oral boşluktaki dental protezler ile aynı koşullarda bulunmadığı göz önüne alınmalıdır.

Sonuç olarak kaynaklar incelendiğinde, *H. pylori*'nin günümüzde gerek bulaş yolu ve biyofilm oluşumu gerekse periodontal ve mide hastalıkları olan kişilerin oral boşluklarındaki prevalansı hakkında henüz sınırlı sayıda veri bulunduğu görülmektedir. *H. pylori* oral boşlukta uzun zamandır tespit edilmesine rağmen günümüzde bu sonuçlar hala tartışmalıdır. Oral boşluğun *H. pylori* için ektragastrik bir rezervuar olarak kabul edildiği bir durumda oral boşluk *H. pylori* enfeksiyonu açısından hem bir bulaş yolu hem de reenfeksiyon kaynağı olarak görev yapabilir. Elde ettiğimiz sonuçlar diş plağında bulunduğu kesinleşmiş olan *H. pylori*'nin dental protezlerde de bulunabileceğini göstermiştir. Özellikle dental protezlerde diş fırçasının ulaşamadığı yüzeylerin kolonizasyon için uygun bir ortam oluşturduğu düşünülmüştür. Diş plağı ve dental protezlerde biyofilm oluşturan bakteriler antibiyotik tedavisinden etkilenmeyeceğinden tedavide başarısızlıklara ve reenfeksiyona sebebiyet verebilir. Bu sebeple dental protezlerle yapılan bir ilk araştırma özelliğindeki bu çalışmadan elde edilen verilerin daha sonra yapılacak çalışmalarla artırılması; dental protezlerin *H. pylori* enfeksiyonundaki olası rolünü ve böylelikle *H. pylori*'nin mevcut tedaviye direncini ve gelecekteki eradikasyon uygulamalarını değiştirme potansiyelini anlamamız açısından önemlidir.

6. KAYNAKLAR

1. Diaconescu S, Stanca R, Bolat M, Olaru C, Gimiga N, Fatu-Vascu A-M, et al. Updates in epidemiology and prevention of *Helicobacter pylori* infection. *Rom J Oral Rehabil* 2016;8(3):40-7.
2. Watari J, Chen N, Amenta PS, Fukui H, Oshima T, Tomita T, et al. *Helicobacter pylori* associated chronic gastritis, clinical syndromes, precancerous lesions, and pathogenesis of gastric cancer development. *World J Gastroenterol* 2014;20(18):5461-73.
3. Anand PS, Kamath KP, Anil S. Role of dental plaque, saliva and periodontal disease in *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2014;20(19):5639-53.
4. Yonezawa H, Osaki T, Kamiya S. Biofilm Formation by *Helicobacter pylori* and Its Involvement for Antibiotic Resistance. *Biomed Res Int* 2015;2015:914791.
5. Kidd M, Modlin IM. A century of *Helicobacter pylori* - Paradigms lost paradigms regained. *Digestion* 1998;59(1):1-15.
6. Dick E, Lee A, Watson G, Orourke J. Use of the Mouse for the Isolation and Investigation of Stomach-Associated, Spiral-Helical Shaped Bacteria from Man and Other Animals. *J Med Microbiol* 1989;29(1):55-62.
7. Doenges JL. Spirochetes in gastric glands of *Macacus rhesus* and humans without definite history of related disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1938;38(4):536-8.
8. Freedberg AS, Barron LE. The presence of spirochetes in human gastric mucosa. *The American Journal of Digestive Diseases* 1940;7(10):443-5.
9. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The lancet* 1983;321(8336):1273-5.
10. Marshall B, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The lancet* 1984;323(8390):1311-5.
11. Steer H, Colin-Jones D. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 1975;16(8):590-7.
12. Moss SF. The Rediscovery of H-pylori Bacteria in the Gastric Mucosa by Robin Warren, and Implications of this Finding for Human Biology and Disease. *Digest Dis Sci* 2013;58(11):3072-8.
13. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric *Campylobacter*. *Med J Aust* 1985;142(8):436-9.

14. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T, Peters M, Collins MD, Sly L, et al. Transfer of *Campylobacter-pylori* and *Campylobacter-Mustelae* to *Helicobacter* Gen-Nov as *Helicobacter-pylori* Comb-Nov and *Helicobacter Mustelae* Comb-Nov, Respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989;39(4):397-405.
15. NIH Consensus Conference. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in Peptic Ulcer Disease. *JAMA* 1994;272(1):65-9.
16. WHO. *Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter pylori: IARC Monographs on the Carcinogenic Risks to Humans: World Health Organization; 1994.*
17. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2005: NobelPrize.org; 2005 [04.08.2021]. Available from: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2005/summary/>.
18. Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R, et al. Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* Taxonomy - Emendation of Generic Descriptions and Proposal of *Arcobacter* Gen-Nov. *Int J Syst Bacteriol* 1991;41(1):88-103.
19. Owen RJ. *Helicobacter*, pp: 1548-75. In: Murray PR, Funke G, Borriello SP (eds), *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*. 2010, 10thed. Washington DC.
20. Lawson AJ. *Helicobacter*, pp: 1013-27. In: Jorgensen JH, Pfaller MA (eds), *Manual of Clinical Microbiology*. 2015, 11thed. Washington DC.
21. Mikkonen TP, Karenlampi RI, Hanninen ML. Phylogenetic analysis of gastric and enterohepatic *Helicobacter* species based on partial HSP60 gene sequences. *Int J Syst Evol Microbiol* 2004;54(Pt 3):753-8.
22. Dewhirst FE, Shen Z, Scimeca MS, Stokes LN, Boumenna T, Chen T, et al. Discordant 16S and 23S rRNA gene phylogenies for the genus *Helicobacter*: implications for phylogenetic inference and systematics. *J Bacteriol* 2005;187(17):6106-18.
23. Cover TL, Blaser M. *Helicobacter pylori* and other gastric *Helicobacter* species, pp: 2494-502. In: Bennet JE, Dolin R, Blaser MJ (eds), *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 2015, 8thed. Philadelphia.
24. Ierardi E, Losurdo G, Mileti A, Paolillo R, Giorgio F, Principi M, et al. The Puzzle of Coccoid Forms of *Helicobacter pylori*: Beyond Basic Science. *Antibiotics (Basel)* 2020;9(6).
25. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Campylobacter and Helicobacter*, pp: 286–92. In: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (eds), *Medical Microbiology*. 2021, 9thed. Philadelphia.

26. Sheu BS, Yang HB, Yeh YC, Wu JJ. Helicobacter pylori colonization of the human gastric epithelium: a bug's first step is a novel target for us. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2010;25(1):26-32.
27. Moran AP. Molecular Structure, Biosynthesis, and Pathogenic Roles of Lipopolysaccharides, pp: 81-95. In: Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL (eds), *Helicobacter pylori: Physiology and Genetics*. 2001. Washington DC.
28. Castillo-Rojas G, Mazari-Hiriart M, Lopez-Vidal Y. [Helicobacter pylori: focus on CagA and VacA major virulence factors]. *Salud Publica Mex* 2004;46(6):538-48.
29. Oleastro M, Menard A. The Role of Helicobacter pylori Outer Membrane Proteins in Adherence and Pathogenesis. *Biology (Basel)* 2013;2(3):1110-34.
30. Beswick EJ, Pinchuk IV, Minch K, Suarez G, Sierra JC, Yamaoka Y, et al. The Helicobacter pylori urease B subunit binds to CD74 on gastric epithelial cells and induces NF-kappaB activation and interleukin-8 production. *Infect Immun* 2006;74(2):1148-55.
31. Mori M, Suzuki H, Suzuki M, Kai A, Miura S, Ishii H. Catalase and superoxide dismutase secreted from Helicobacter pylori. *Helicobacter* 1997;2(2):100-5.
32. Gu H. Role of Flagella in the Pathogenesis of Helicobacter pylori. *Curr Microbiol* 2017;74(7):863-9.
33. Rad R, Gerhard M, Lang R, Schoniger M, Rosch T, Schepp W, et al. The Helicobacter pylori blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *J Immunol* 2002;168(6):3033-41.
34. Smith SM. Role of Toll-like receptors in Helicobacter pylori infection and immunity. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2014;5(3):133-46.
35. Wang HJ, Cheng WC, Cheng HH, Lai CH, Wang WC. Helicobacter pylori cholesteryl glucosides interfere with host membrane phase and affect type IV secretion system function during infection in AGS cells. *Mol Microbiol* 2012;83(1):67-84.
36. McGee DJ, George AE, Trainor EA, Horton KE, Hildebrandt E, Testerman TL. Cholesterol enhances Helicobacter pylori resistance to antibiotics and LL-37. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(6):2897-904.
37. Kim SS, Ruiz VE, Carroll JD, Moss SF. Helicobacter pylori in the pathogenesis of gastric cancer and gastric lymphoma. *Cancer Lett* 2011;305(2):228-38.
38. Salavati S, Hedayati MA, Ahmadi A, Fakhari S, Jalili A. Relationship between Helicobacter pylori cagA genotypes infection and IL-10 and TGFβ1 genes' expression in gastric epithelial cells. *International journal of preventive medicine* 2020;11.

39. Tegtmeyer N, Wessler S, Backert S. Role of the *cag*-pathogenicity island encoded type IV secretion system in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *FEBS J* 2011;278(8):1190-202.
40. Tegtmeyer N, Hartig R, Delahay RM, Rohde M, Brandt S, Conradi J, et al. A small fibronectin-mimicking protein from bacteria induces cell spreading and focal adhesion formation. *J Biol Chem* 2010;285(30):23515-26.
41. Amieva MR, El-Omar EM. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 2008;134(1):306-23.
42. Bourzac KM, Guillemin K. *Helicobacter pylori*-host cell interactions mediated by type IV secretion. *Cellular microbiology* 2005;7(7):911-9.
43. Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, et al. SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. *Science* 2002;295(5555):683-6.
44. Jones KR, Joo YM, Jang S, Yoo YJ, Lee HS, Chung IS, et al. Polymorphism in the CagA EPIYA motif impacts development of gastric cancer. *J Clin Microbiol* 2009;47(4):959-68.
45. Lee IO, Kim JH, Choi YJ, Pillinger MH, Kim S-Y, Blaser MJ, et al. *Helicobacter pylori* CagA phosphorylation status determines the gp130-activated SHP2/ERK and JAK/STAT signal transduction pathways in gastric epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry* 2010;285(21):16042-50.
46. Stein M, Bagnoli F, Halenbeck R, Rappuoli R, Fantl WJ, Covacci A. c-Src/Lyn kinases activate *Helicobacter pylori* CagA through tyrosine phosphorylation of the EPIYA motifs. *Molecular microbiology* 2002;43(4):971-80.
47. Vilar ESA, Junior MR, Vinagre RM, Santos KN, da Costa RA, Fecury AA, et al. Evaluation of the Pattern of EPIYA Motifs in the *Helicobacter pylori* *cagA* Gene of Patients with Gastritis and Gastric Adenocarcinoma from the Brazilian Amazon Region. *Int J Bacteriol* 2014;2014:418063.
48. Argent RH, Thomas RJ, Letley DP, Rittig MG, Hardie KR, Atherton JC. Functional association between the *Helicobacter pylori* virulence factors *VacA* and *CagA*. *J Med Microbiol* 2008;57(2):145-50.
49. Hojsak I. *Helicobacter pylori* and Peptic Ulcer Disease, pp: 143-55. In: Guandalini S, Dhawan A, Branski D (eds), *Textbook of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. A Comprehensive Guide to Practice*. 2016. New York.

50. Kim I-J, Blanke SR. Remodeling the host environment: modulation of the gastric epithelium by the *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA). *Frontiers in cellular and infection microbiology* 2012;2:37.
51. Sewald X, Fischer W, Haas R. Sticky socks: *Helicobacter pylori* VacA takes shape. *Trends Microbiol* 2008;16(3):89-92.
52. Waters CM, Bassler BL. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2005;21:319-46.
53. Stark R, Gerwig G, Pitman R, Potts L, Williams N, Greenman J, et al. Biofilm formation by *Helicobacter pylori*. *Letters in applied microbiology* 1999;28(2):121-6.
54. Cole SP, Harwood J, Lee R, She R, Guiney DG. Characterization of monospecies biofilm formation by *Helicobacter pylori*. *J Bacteriol* 2004;186(10):3124-32.
55. Garcia A, Salas-Jara MJ, Herrera C, Gonzalez C. Biofilm and *Helicobacter pylori*: from environment to human host. *World J Gastroenterol* 2014;20(19):5632-8.
56. Bellack N, Koehoorn M, MacNab Y, Morshed M. A conceptual model of water's role as a reservoir in *Helicobacter pylori* transmission: a review of the evidence. *Epidemiology & Infection* 2006;134(3):439-49.
57. Bui D, Brown HE, Harris RB, Oren E. Serologic Evidence for Fecal-Oral Transmission of *Helicobacter pylori*. *Am J Trop Med Hyg* 2016;94(1):82-8.
58. Moreno Y, Piqueres P, Alonso JL, Jiménez A, González A, Ferrús MA. Survival and viability of *Helicobacter pylori* after inoculation into chlorinated drinking water. *Water research* 2007;41(15):3490-6.
59. Watson C, Owen R, Said B, Lai S, Lee J, Surman-Lee S, et al. Detection of *Helicobacter pylori* by PCR but not culture in water and biofilm samples from drinking water distribution systems in England. *Journal of applied microbiology* 2004;97(4):690-8.
60. Perez-Perez GI, Taylor DN, Bodhidatta L, Wongsrichanalai J, Baze WB, Dunn BE, et al. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infections in Thailand. *J Infect Dis* 1990;161(6):1237-41.
61. Schwarz S, Morelli G, Kusecek B, Manica A, Balloux F, Owen RJ, et al. Horizontal versus familial transmission of *Helicobacter pylori*. *PLoS Pathog* 2008;4(10):e1000180.
62. Owen RJ, Xerry J. Tracing clonality of *Helicobacter pylori* infecting family members from analysis of DNA sequences of three housekeeping genes (*ureI*, *atpA* and *ahpC*), deduced amino acid sequences, and pathogenicity-associated markers (*cagA* and *vacA*). *J Med Microbiol* 2003;52(Pt 6):515-24.

63. Tonkic A, Tonkic M, Lehours P, Megraud F. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2012;17 Suppl 1:1-8.
64. Zhang M, Zhou YZ, Li XY, Tang Z, Zhu HM, Yang Y, et al. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in elderly people in the Beijing region, China. *World J Gastroenterol* 2014;20(13):3635-9.
65. Ueda J, Goshō M, Inui Y, Matsuda T, Sakakibara M, Mabe K, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection by birth year and geographic area in Japan. *Helicobacter* 2014;19(2):105-10.
66. van Blankenstein M, van Vuuren AJ, Looman CW, Ouwendijk M, Kuipers EJ. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in the Netherlands. *Scand J Gastroenterol* 2013;48(7):794-800.
67. Den Hollander WJ, Holster IL, den Hoed CM, van Deurzen F, van Vuuren AJ, Jaddoe VW, et al. Ethnicity is a strong predictor for *Helicobacter pylori* infection in young women in a multi-ethnic European city. *Journal of gastroenterology and hepatology* 2013;28(11):1705-11.
68. Bastos J, Peleteiro B, Barros R, Alves L, Severo M, de Fatima Pina M, et al. Sociodemographic determinants of prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection in Portuguese adults. *Helicobacter* 2013;18(6):413-22.
69. Sethi A, Chaudhuri M, Kelly L, Hopman W. Prevalence of *Helicobacter pylori* in a First Nations population in northwestern Ontario. *Can Fam Physician* 2013;59(4):e182-7.
70. Alvarado-Esquivel C. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in pregnant women in rural Durango, Mexico. *Int J Biomed Sci* 2013;9(4):224-9.
71. Baingana RK, Kiboko Enyaru J, Davidsson L. *Helicobacter pylori* infection in pregnant women in four districts of Uganda: role of geographic location, education and water sources. *BMC Public Health* 2014;14:915.
72. Poveda GF, Carrillo KS, Monje ME, Cruz CA, Cancino AG. *Helicobacter pylori* infection and gastrointestinal symptoms on Chilean pregnant women. *Rev Assoc Med Bras (1992)* 2014;60(4):306-10.
73. Sivapalasingam S, Rajasingham A, Macy JT, Friedman CR, Hoekstra RM, Ayers T, et al. Recurrence of *Helicobacter pylori* infection in Bolivian children and adults after a population-based "screen and treat" strategy. *Helicobacter* 2014;19(5):343-8.
74. Önder T, Anuk T, Heybeli C. Oral Hijyen İndeksi ve Gastrik *Helicobacter pylori* Pozitifliği İlişkisi. *Dicle Medical Journal/Dicle Tıp Dergisi* 2016;43(1).

75. Ozaydin N, Turkyilmaz SA, Cali S. Prevalence and risk factors of helicobacter pylori in Turkey: a nationally-representative, cross-sectional, screening with the 13 C-Urea breath test. *BMC public health* 2013;13(1):1-12.
76. Önder T. Evaluation of Helicobacter pylori colonization at the northeast region of Turkey. *International journal of scientific research* 2018;7(2).
77. Gurbuz AK, Ozel AM, Yazgan Y, Celik M, Yildirim S. Oral colonization of Helicobacter pylori: risk factors and response to eradication therapy. *Southern medical journal* 2003;96(3):244-8.
78. Serin KR, Akyüz Ü, Batman B, Uymaz DS, Altun H. Does Helicobacter pylori infection influence the major postoperative complication rate after sleeve gastrectomy? A retrospective cohort study in an endemic region. *The Turkish Journal of Gastroenterology* 2018;29(4):379.
79. Malfertheiner P, Megraud F, O'morain C, Gisbert J, Kuipers E, Axon A, et al. Management of Helicobacter pylori infection—the Maastricht V/Florence consensus report. *Gut* 2017;66(1):6-30.
80. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Atherton J, Axon AT, Bazzoli F, et al. Management of Helicobacter pylori infection—the Maastricht IV/Florence consensus report. *Gut* 2012;61(5):646-64.
81. Sugano K, Tack J, Kuipers EJ, Graham DY, El-Omar EM, Miura S, et al. Kyoto global consensus report on Helicobacter pylori gastritis. *Gut* 2015;64(9):1353-67.
82. Morris A, Nicholson G. Ingestion of Campylobacter pyloridis causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987;82(3):192-9.
83. Mera R, Fontham ET, Bravo LE, Bravo JC, Piazuelo MB, Camargo MC, et al. Long term follow up of patients treated for Helicobacter pylori infection. *Gut* 2005;54(11):1536-40.
84. Atherton JC, Blaser MJ. Coadaptation of Helicobacter pylori and humans: ancient history, modern implications. *J Clin Invest* 2009;119(9):2475-87.
85. Baron JH, Sonnenberg A. Period- and cohort-age contours of deaths from gastric and duodenal ulcer in New York 1804-1998. *Am J Gastroenterol* 2001;96(10):2887-91.
86. Khulusi S, Badve S, Patel P, Lloyd R, Marrero JM, Finlayson C, et al. Pathogenesis of gastric metaplasia of the human duodenum: role of Helicobacter pylori, gastric acid, and ulceration. *Gastroenterology* 1996;110(2):452-8.
87. Blaser MJ, Atherton JC. Helicobacter pylori persistence: biology and disease. *J Clin Invest* 2004;113(3):321-33.

88. Parasher G, Eastwood GL. Smoking and peptic ulcer in the *Helicobacter pylori* era. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12(8):843-53.
89. Levine SM, Lin EA, Emara W, Kang J, DiBenedetto M, Ando T, et al. Plastic cells and populations: DNA substrate characteristics in *Helicobacter pylori* transformation define a flexible but conservative system for genomic variation. *The FASEB Journal* 2007;21(13):3458-67.
90. Argent RH, Thomas RJ, Aviles-Jimenez F, Letley DP, Limb MC, El-Omar EM, et al. Toxigenic *Helicobacter pylori* infection precedes gastric hypochlorhydria in cancer relatives, and *H. pylori* virulence evolves in these families. *Clinical cancer research* 2008;14(7):2227-35.
91. Banatvala N, Mayo K, Megraud F, Jennings R, Deeks JJ, Feldman RA. The cohort effect and *Helicobacter pylori*. *J Infect Dis* 1993;168(1):219-21.
92. Robinson K, Kenefeck R, Pidgeon EL, Shakib S, Patel S, Polson R, et al. *Helicobacter pylori*-induced peptic ulcer disease is associated with inadequate regulatory T cell responses. *Gut* 2008;57(10):1375-85.
93. Wong BC-Y, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, et al. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *Jama* 2004;291(2):187-94.
94. Sheu BS, Shiesh SC, Wang JT, Yang HB, Lin ST, Wu JJ. Clinical application of 20 MHz endosonography and anti-*Helicobacter pylori* immunoblots to predict regression of low-grade gastric MALToma by *H. pylori* eradication. *Helicobacter* 2003;8(1):36-45.
95. Ohnishi N, Yuasa H, Tanaka S, Sawa H, Miura M, Matsui A, et al. Transgenic expression of *Helicobacter pylori* CagA induces gastrointestinal and hematopoietic neoplasms in mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(3):1003-8.
96. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991;338(8776):1175-6.
97. Farinha P, Gascoyne RD. *Helicobacter pylori* and MALT lymphoma. *Gastroenterology* 2005;128(6):1579-605.
98. Hussell T, Isaacson PG, Crabtree JE, Spencer J. The response of cells from low-grade B-cell gastric lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue to *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1993;342(8871):571-4.
99. Isaacson PG, Diss TC, Wotherspoon AC, Barbazza R, de Boni M, Doglioni C. Long-term follow-up of gastric MALT lymphoma treated by eradication of *H. pylori* with antibiotics. *Gastroenterology* 1999;117(3):750-1.

100. Franceschi F, Gasbarrini A, Polyzos SA, Kountouras J. Extragastric Diseases and *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2015;20 Suppl 1:40-6.
101. Lopes AI, Vale FF, Oleastro M. *Helicobacter pylori* infection - recent developments in diagnosis. *World J Gastroenterol* 2014;20(28):9299-313.
102. Tseng CA, Wang WM, Wu DC. Comparison of the clinical feasibility of three rapid urease tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Dis Sci* 2005;50(3):449-52.
103. Douraghi M, Kashani SS, Zeraati H, Esmaili M, Oghalaie A, Mohammadi M. Comparative evaluation of three supplements for *Helicobacter pylori* growth in liquid culture. *Curr Microbiol* 2010;60(4):254-62.
104. Walsh EJ, Moran AP. Influence of medium composition on the growth and antigen expression of *Helicobacter pylori*. *J Appl Microbiol* 1997;83(1):67-75.
105. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20(10):1161-81.
106. Garza-Gonzalez E, Perez-Perez GI, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ. A review of *Helicobacter pylori* diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. *World J Gastroenterol* 2014;20(6):1438-49.
107. Fallone CA, Loo VG, Lough J, Barkun AN. Hematoxylin and eosin staining of gastric tissue for the detection of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1997;2(1):32-5.
108. Morgner A, Lehn N, Andersen LP, Thiede C, Bennedsen M, Trebesius K, et al. *Helicobacter heilmannii*-associated primary gastric low-grade MALT lymphoma: complete remission after curing the infection. *Gastroenterology* 2000;118(5):821-8.
109. Rimbara E, Sasatsu M, Graham DY. PCR detection of *Helicobacter pylori* in clinical samples. *Methods Mol Biol* 2013;943:279-87.
110. Harris P, Perez-Perez G, Zylberberg A, Rollan A, Serrano C, Riera F, et al. Relevance of adjusted cut-off values in commercial serological immunoassays for *Helicobacter pylori* infection in children. *Dig Dis Sci* 2005;50(11):2103-9.
111. Capurso G, Carnuccio A, Lahner E, Panzuto F, Baccini F, Fave G, et al. Corpus-predominant gastritis as a risk factor for false-negative ¹³C-urea breath test results. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2006;24(10):1453-60.
112. Gisbert J, Pajares J. ¹³C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection—a critical review. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2004;20(10):1001-17.
113. Goddard AF, Logan RP. Review article: urea breath tests for detecting *Helicobacter pylori*. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11(4):641-9.

114. Korkmaz H, Kesli R, Karabagli P, Terzi Y. Comparison of the diagnostic accuracy of five different stool antigen tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2013;18(5):384-91.
115. Shimoyama T. Stool antigen tests for the management of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2013;19(45):8188-91.
116. Yang JC, Lu CW, Lin CJ. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: current status and future concepts. *World J Gastroenterol* 2014;20(18):5283-93.
117. Savoldi A, Carrara E, Graham DY, Conti M, Tacconelli E. Prevalence of Antibiotic Resistance in *Helicobacter pylori*: A Systematic Review and Meta-analysis in World Health Organization Regions. *Gastroenterology* 2018;155(5):1372-82 e17.
118. Tshibangu-Kabamba E, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* infection and antibiotic resistance - from biology to clinical implications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;18(9):613-29.
119. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis* 2018;18(3):318-27.
120. Lambert JR, Midolo P. The actions of bismuth in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11 Suppl 1:27-33.
121. Berry V, Jennings K, Woodnutt G. Bactericidal and morphological effects of amoxicillin on *Helicobacter pylori*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39(8):1859-61.
122. Besancon M, Simon A, Sachs G, Shin JM. Sites of reaction of the gastric H,K-ATPase with extracytoplasmic thiol reagents. *J Biol Chem* 1997;272(36):22438-46.
123. Cremonini F, Di Caro S, Covino M, Armuzzi A, Gabrielli M, Santarelli L, et al. Effect of different probiotic preparations on anti-*helicobacter pylori* therapy-related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol* 2002;97(11):2744-9.
124. Yucel O. Prevention of *Helicobacter pylori* infection in childhood. *World J Gastroenterol* 2014;20(30):10348-54.
125. Sutton P, Boag JM. Status of vaccine research and development for *Helicobacter pylori*. *Vaccine* 2019;37(50):7295-9.
126. Cellini L, Grande R, Di Campli E, Di Bartolomeo S, Di Giulio M, Traini T, et al. Characterization of an *Helicobacter pylori* environmental strain. *J Appl Microbiol* 2008;105(3):761-9.

127. Azevedo NF, Pacheco AP, Keevil CW, Vieira MJ. Adhesion of water stressed *Helicobacter pylori* to abiotic surfaces. *J Appl Microbiol* 2006;101(3):718-24.
128. Ng CG, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J, Ho B. Biofilm formation enhances *Helicobacter pylori* survivability in vegetables. *Food Microbiol* 2017;62:68-76.
129. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, et al. Global Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection: Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology* 2017;153(2):420-9.
130. Krajden S, Fuksa M, Anderson J, Kempston J, Boccia A, Petrea C, et al. Examination of human stomach biopsies, saliva, and dental plaque for *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1989;27(6):1397-8.
131. Chaudhry S, Iqbal HA, Khan AA, Izhar M, Butt AK, Akhter MW, et al. *Helicobacter pylori* in dental plaque and gastric mucosa: correlation revisited. *J Pak Med Assoc* 2008;58(6):331-4.
132. Madinier IM, Fosse TM, Monteil RA. Oral carriage of *Helicobacter pylori*: a review. *J Periodontol* 1997;68(1):2-6.
133. Silva Rossi-Aguiar V, Navarro-Rodriguez T, Mattar R, Siqueira de Melo Peres M, Correa Barbuti R, Silva F, et al. Oral cavity is not a reservoir for *Helicobacter pylori* in infected patients with functional dyspepsia. *Oral microbiology and immunology* 2009;24(3):255-9.
134. Veiga N, Pereira C, Resende C, Amaral O, Ferreira M, Nelas P, et al. Oral and gastric *Helicobacter pylori*: effects and associations. *PLoS One* 2015;10(5):e0126923.
135. Song Q, Spahr A, Schmid RM, Adler G, Bode G. *Helicobacter pylori* in the oral cavity: high prevalence and great DNA diversity. *Dig Dis Sci* 2000;45(11):2162-7.
136. Burgers R, Schneider-Brachert W, Reischl U, Behr A, Hiller KA, Lehn N, et al. *Helicobacter pylori* in human oral cavity and stomach. *Eur J Oral Sci* 2008;116(4):297-304.
137. Silva DG, Stevens RH, Macedo JM, Albano RM, Falabella ME, Veerman EC, et al. Detection of cytotoxin genotypes of *Helicobacter pylori* in stomach, saliva and dental plaque. *Arch Oral Biol* 2009;54(7):684-8.
138. Roman-Roman A, Giono-Cerezo S, Camorlinga-Ponce M, Martinez-Carrillo DN, Loaiza-Loeza S, Fernandez-Tilapa G. *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* in the oral cavity and stomach of patients with chronic gastritis and gastric ulcer. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013;31(3):130-5.

139. Bharath TS, Reddy MS, Dhanapal R, Raj Kumar NG, Neeladri Raju P, Saraswathi T. Molecular detection and correlation of *Helicobacter pylori* in dental plaque and gastric biopsies of dyspeptic patients. *J Oral Maxillofac Pathol* 2014;18(1):19-24.
140. Yee JK. *Helicobacter pylori* colonization of the oral cavity: A milestone discovery. *World J Gastroenterol* 2016;22(2):641-8.
141. Song Q, Haller B, Schmid RM, Adler G, Bode G. *Helicobacter pylori* in dental plaque: a comparison of different PCR primer sets. *Dig Dis Sci* 1999;44(3):479-84.
142. Song Q, Lange T, Spahr A, Adler G, Bode G. Characteristic distribution pattern of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva detected with nested PCR. *J Med Microbiol* 2000;49(4):349-53.
143. Wang XM, Yee KC, Hazeki-Taylor N, Li J, Fu HY, Huang ML, et al. Oral *Helicobacter pylori*, its relationship to successful eradication of gastric *H. pylori* and saliva culture confirmation. *J Physiol Pharmacol* 2014;65(4):559-66.
144. Zou QH, Li RQ. *Helicobacter pylori* in the oral cavity and gastric mucosa: a meta-analysis. *J Oral Pathol Med* 2011;40(4):317-24.
145. Ren Q, Yan X, Zhou Y, Li WX. Periodontal therapy as adjunctive treatment for gastric *Helicobacter pylori* infection. *Cochrane database of systematic reviews* 2016(2).
146. Li X, Chaouhan HS, Li CH, Yu TM, Wang IK, Lin CL, et al. Higher Risk of Gastric *Helicobacter pylori* Infection in Patients with Periodontitis: A Nationwide Population-Based Retrospective Cohort Study in Taiwan. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18(21).
147. Itskoviz D, Boltin D, Leibovitzh H, Tsadok Perets T, Comaneshter D, Cohen A, et al. Smoking increases the likelihood of *Helicobacter pylori* treatment failure. *Dig Liver Dis* 2017;49(7):764-8.
148. Zheng Y, Liu M, Shu H, Chen Z, Liu G, Zhang Y. Relationship between oral problems and *Helicobacter pylori* infection. *Archives of oral biology* 2014;59(9):938-43.
149. Carron MA, Tran VR, Sugawa C, Coticchia JM. Identification of *Helicobacter pylori* biofilms in human gastric mucosa. *J Gastrointest Surg* 2006;10(5):712-7.
150. Cammarota G, Branca G, Ardito F, Sanguinetti M, Ianiro G, Cianci R, et al. Biofilm demolition and antibiotic treatment to eradicate resistant *Helicobacter pylori*: a clinical trial. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8(9):817-20 e3.
151. Burmolle M, Webb JS, Rao D, Hansen LH, Sorensen SJ, Kjelleberg S. Enhanced biofilm formation and increased resistance to antimicrobial agents and bacterial invasion are caused by synergistic interactions in multispecies biofilms. *Appl Environ Microbiol* 2006;72(6):3916-23.

152. Teughels W, Van Assche N, Sliepen I, Quirynen M. Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clinical oral implants research* 2006;17(S2):68-81.
153. Mei L, Chieng J, Wong C, Benic G, Farella M. Factors affecting dental biofilm in patients wearing fixed orthodontic appliances. *Prog Orthod* 2017;18(1):4.
154. Paranhos HF, Silva-Lovato CH, Souza RF, Cruz PC, Freitas KM, Peracini A. Effects of mechanical and chemical methods on denture biofilm accumulation. *J Oral Rehabil* 2007;34(8):606-12.
155. Persson GR, Renvert S. Cluster of bacteria associated with peri-implantitis. *Clin Implant Dent Relat Res* 2014;16(6):783-93.
156. Nascimento CD, Pita MS, Fernandes F, Pedrazzi V, de Albuquerque Junior RF, Ribeiro RF. Bacterial adhesion on the titanium and zirconia abutment surfaces. *Clin Oral Implants Res* 2014;25(3):337-43.
157. Scarano A, Piattelli M, Caputi S, Favero GA, Piattelli A. Bacterial adhesion on commercially pure titanium and zirconium oxide disks: an in vivo human study. *J Periodontol* 2004;75(2):292-6.
158. Sanchez MC, Llama-Palacios A, Fernandez E, Figuero E, Marin MJ, Leon R, et al. An in vitro biofilm model associated to dental implants: structural and quantitative analysis of in vitro biofilm formation on different dental implant surfaces. *Dent Mater* 2014;30(10):1161-71.
159. Al-Radha AS, Dymock D, Younes C, O'Sullivan D. Surface properties of titanium and zirconia dental implant materials and their effect on bacterial adhesion. *J Dent* 2012;40(2):146-53.
160. Abdalla MM, Ali IAA, Khan K, Mattheos N, Murbay S, Matinlinna JP, et al. The Influence of Surface Roughening and Polishing on Microbial Biofilm Development on Different Ceramic Materials. *J Prosthodont* 2021;30(5):447-53.
161. Kim KH, Loch C, Waddell JN, Tompkins G, Schwass D. Surface Characteristics and Biofilm Development on Selected Dental Ceramic Materials. *Int J Dent* 2017;2017:7627945.
162. Malhotra R, Dhawan B, Garg B, Shankar V, Nag TC. A Comparison of Bacterial Adhesion and Biofilm Formation on Commonly Used Orthopaedic Metal Implant Materials: An In vitro Study. *Indian J Orthop* 2019;53(1):148-53.
163. Øilo M, Bakken V. Biofilm and dental biomaterials. *Materials* 2015;8(6):2887-900.

7. İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

DENTAL HASTA PROTEZLERİNDE HELICOBACTER PYLORI VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI VE PROTEZ MATERYALLERİNDE BİYOFİLM OLUŞUMUNUN İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 9	% 7	% 3	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 2
2	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	% 1
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<% 1
4	cdn.istanbul.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	Tomáš Vyhnánek, Pavel Hanáček, Ivana Šafránková, Biljana Đorđević, Helena Beranová, Václav Trojan, Ladislav Havel. "Molecular Detection of Fungi in Paprika, Chili Powder and Black Pepper", Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 2018 Yayın	<% 1