

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI SERVİS ŞEFLİĞİ

HELİKOBAKTER PİLORİ POZİTİF ÜLSER VE NON-ÜLSER DİSPEPSİLİ
HASTALARDA CAG A (Cytotoxin Associated Gene A) SEROPOZİTİFLİĞİ VE
HİSTOPATOLOJİ İLE İLİŞKİSİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Emrullah SOLMAZGÜL

88426

İSTANBUL – 1999

T.C. YÜKSEKÖĐRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ	1
II.	GENEL BİLGİLER	2
A.	HELİKOBAKTER PİLORİ	2
1.	MORFOLOJİ	2
2.	EPİDEMİYOLOJİ	3
3.	TANI YÖNTEMLERİ	3
a)	KÜLTÜR	3
b)	HİSTOLOJİK YÖNTEMLER	5
c)	ÜREAZ TESTİ	5
d)	ÜRE SOLUNUM TESTİ	5
e)	SEROLOJİK YÖNTEMLER	5
f)	İMMUN FLORESAN VE ELEKTRON MİKROSKOBİSİ	5
g)	PCR YÖNTEMİ	6
4.	PATOGENETİK MEKANİZMALAR	6
B.	PEPTİK ÜLSER, NON-ÜLSER DİSPEPSİ VE GASTRİTLER	8
III.	GEREÇ VE YÖNTEM	13
IV.	BÜLGULAR	17
V.	TARTIŞMA VE SONUÇ	23
VI.	ÖZET	30
VII.	YABANCI DİLDE ÖZET (İNGİLİZCE)	31
VIII.	KAYNAKLAR	32

Ö N S Ö Z

Bu tez konusu, G.A.T.A. Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Servis Şefliği'nin 31.01.1997 gün ve Dah. Kl: 4031-28-97/437 sayılı emri ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Helikobakter pilori halen tüm dünyada yaygın olarak bulunan ve önemli gastrointestinal hastalıklara eşlik eden bir patojendir. Bakterinin birçok virulan faktörü yanında *Cag A* seropozitifliği patojeniteden sorumlu önemli bir faktör gibi görünmektedir. Biz, bu çalışmamızda ispepsili erişkin hastalarda Helikobakter pilori *Cag A* seropozitifliğini inceleyip, histopatoloji ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Tezimin hazırlanmasında değerli katkıları dolayısıyla tez hocam Doç. Dr. Levent DEMİRTÜRK'e teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden her zaman yararlandığım, yetişmemde emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet DANACI, Prof. Dr. M. Yaşar ÜLBEK, Prof. Dr. Necdet ÜSKENT ve Prof. Dr. Hayati TOR'a teşekkür ve saygılarımı arz ederim.

Rotasyonlarım sırasında bilgi ve tecrübeleriyle eğitimime olan değerli katkılarından dolayı Prof. Dr. Muharrem COŞKUN, Prof. Dr. Mehmet DİNÇTÜRK, Doç. Dr. A. Kemal FÜRBUZ, Doç. Dr. Mustafa YAYLACI, Doç. Dr. Ahmet ÖZTÜRK, Doç. Dr. Nuri İYİBAKSEVER ve Doç. Dr. B. Sıtkı CEBECİ'ye teşekkür ederim. Ayrıca yetişmemde yardım ve katkıları olan Yrd. Doç. Dr. A. Melih ÖZEL, Yrd. Doç. Dr. Rıfki EVRENKAYA, Yrd. Doç. Dr. Mesut BAŞAK, Yrd. Doç. Dr. Yusuf YAZGAN, Yrd. Doç. Dr. Zeki ÇANKIR, Yrd. Doç. Dr. Cihan TOP ve Yrd. Doç. Dr. Gökhan KANDEMİR'e teşekkür ederim.

Endoskopik işlemleri gerçekleştiren Uzm. Dr. O. Cavit ÖZDOĞAN ve Uzm. Dr. Orhan FARÇIN'a, histopatolojik incelemeyi yapan Uzm. Dr. Şükrü YILDIRIM'a ve *Cag A* serolojisini çalışan biyolog Tülinay DURGUN'a teşekkür ederim.

Birlikte çalıştığımız süre içerisinde yardımlarını gördüğüm tüm doktor arkadaşlarıma, hemşire ve yardımcı sağlık personeline teşekkür ederim.

Meslek ve sosyal hayatımda bana daima destek olan sevgili eşim Dr. Zeyni SOLMAZGÜL'e teşekkür ederim.

Dr. Emrullah SOLMAZGÜL

GİRİŞ

Helikobakter pilori (HP), dünyadaki tüm insanların %20-90'ının mide mukozasını etkileyen gram negatif bakteridir (3,29,56). HP infeksiyon prevalansı, kişilerin sosyoekonomik durumu, coğrafi bölge ve yaş faktörüne bağlı olarak değişiklik gösterir. Çoğu infekte kişilerde HP infeksiyonu semptomsuz veya birkaç semptomla yıllarca iyi tolere edilir (18). Bununla beraber HP infeksiyonunun peptik ülser, non-ülser dispepsi (NUD), mide antrum adenokarsinomu gibi pekçok gastrointestinal hastalık için önemli bir etyolojik ajan olduğu (4,42), HP eradikasyonunun duodenal veya mide ülseri nüks oranında belirgin bir azalma sağladığı belirtilmektedir (64).

HP ile infekte kişilerin sadece bir grubunda hastalık oluşması ve infeksiyonun yıllarca semptomsuz kalması, konağa ait pekçok faktör yanında HP'nin özel virulans belirleyicileri olabileceğini gündeme getirmiştir.

HP türlerinin yaklaşık %50'si invitro olarak vakuoller oluşturan sitotoksin aktivitesi (*Vac A*) meydana getirirler (12). HP'nin diğer bir potansiyel virulans belirleyicisi ise *Cag A* (cytotoxin associated gene A) ürünüdür (5). Yüksek moleküllü (120-140 kDa) yoğun proteinlerin bir ailesini şifreleyen *Cag A* geni, HP örneklerinin yaklaşık %60'ında mevcuttur (5). HP ile infekte peptik ülserli hastalar, HP (+) gastriti olanlara göre daha sık olarak *Cag A*'ya serolojik yanıt göstermiştir (10,11).

Türkiye gibi HP prevalansı yüksek olan toplumlarda, HP eradikasyonunun maliyeti gözönüne alındığında, virulan faktörlerin önemi açıktır.

Bu çalışmadaki amaç; peptik ülser hastaları ile NUD'li hastalarda HP *Cag A* pozitifliğini araştırmak ve HP (+) hastalarda, *Cag A* (+) ve (-) grupların histopatolojik skorlamasını karşılaştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

HELİKOBAKTER PİLORİ

Son yıllarda popüler hale gelen HP'nin geçmişi, 1900'lü yıllara kadar uzanır (53). Ancak lönüm noktasını, 1983 yılında Warren ve Marshall adlı araştırmacıların kronik aktif gastritte spiral yapılı bakterilerin rol oynadığını ve peptik ülser etyopatogenezinde önemli olduğunu bildirmeleri oluşturur. Bu bakteri, morfolojik olarak "Campylobacter jejuni"ye benzemesi nedeni ile önce "Campylobacter-like organism" olarak adlandırılmış, 1984 yılında ıretilmesinden sonra "Campylobacter pyloridis" adı verilmiş, bu ad daha sonra "Campylobacter pylori"ye çevrilmiştir (19). Yapılan çalışmalar sonucunda Kampilobakter pilori ile, gerçek kampilobakter türü arasında, yağ asitleri yapısı, RNA zincir yapısı ve enzimlerinde birçok farklılıklar olduğu anlaşılmıştır. Bu farklı özellikleri nedeni ile Kampilobakter pilori ismi, yeni türün bir üyesi olarak "Helicobacter pylori"ye çevrilmiştir (50).

MORFOLOJİ: HP gram negatif, spiral şeklinde, kısa, birden fazla flagellaya sahip ve mikroaerofilik bir basildir (26). Doku kesitlerinde ve yayma incelemelerinde; Warthin-Starry gümüş boyası, Hemotoksilen-Eozin, Gram boyası, modifiye Giemsa ve Akriden Oranj boyasıyla görülebilir (26). Mide lümeninde mukus tabakası altında ve epitel hücre yüzeyinde yerleşirler (52). Bakteri, mukoza afinitesi olması nedeni ile midenin her yerinde kolonize olmakla birlikte özellikle antrumda yerleşim göstermektedir (24). HP mikroaerofil özellik göstermekte ve 37°C ısı, %10 CO₂ ve %5-7 O₂ konsantrasyonlu ortamda optimal üreme yapmaktadır. Ağızdan girdikten sonra mukus içinde hareket yeteneği artar, kendisine uygun ortama ulaştığında adhezinleri ile tutunup etrafındaki asidi, üreaz enzimi ile nötralize eder. Mikroaerofil olması nedeniyle çoğalabilir ve konağın verdiği yanıtı göre klinik tablo meydana getirir (36,43).

EPİDEMİYOLOJİ: HP dünyadaki en yaygın infeksiyonu oluşturur. Gelişmiş ülkelerde yetişkinlerin %30-50'sinde, gelişmekte olan ülkelerde ise toplumun %80'den fazlasında bu bakteri mevcuttur (29,42,56)(Şekil-1). İnfeksiyon yaşamın ilk yıllarında bulaşmakta ve yaşamboyu devam etmektedir (44). Gelişmiş ülkeler sanitasyon sorunlarını çözdüklerinden, bu ülkelerde infeksiyon nadir olmakla birlikte, yetişkinlerin %50'si infektidir. Çünkü bu erişkinlerin çocukluğunda ülkeleri henüz gelişmemiş ve sanitasyon sorunları çözülmemişti (28). Gelişmekte olan ülkelerde ise önemli sosyoekonomik değişiklik olmadığından çocukların çoğu, yetişkinlerin ise %90'ı HP ile infektidir (30). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, üst gastrointestinal endoskopi için başvuran hastalarda HP (+)'liği %86, peptik ülserli olanlarda %91 bulunmuştur (56). Ekonomik durumu iyi olan ve yüksek eğitim görenlerde infeksiyonun sıklığı daha düşüktür (28). Alkol, sigara, diyet ve non-steroid antiinflamatuvar tüketimi ile HP prevalansı arasında ilişki yoktur (48).

HP'nin rezervuarı ve geçiş yolu halen kesin şekilde bilinmemekte ancak bir aile içi infeksiyon olduğu düşünülmektedir. Seksüel ilişki ile geçtiğine dair bilgi yoktur. Toplu yaşanan yerlerde infeksiyon sık, prevalansı yüksektir (20,48,49,54). Bulaşmanın fekal-oral veya oral-oral olduğunu gösteren çalışmalar vardır (35,61). Evinde evcil hayvan besleyen kişilerde HP infeksiyonu sıklığı düşüktür. İnsanın doğal rezervuar olduğu düşünülmektedir (27).

Epidemiyolojik veriler, infeksiyonun bulaşmasında en belirleyici faktörün, çocukluk çağı sosyoekonomik koşulları olduğunu ortaya koymaktadır.

TANI YÖNTEMLERİ (Tablo-I):

1-Kültür: En iyi tanı yöntemlerinden biridir. Mikroaerofil olup, kültürde zor üretilir (16,63). Bu nedenle üreme olmuşsa tanı kesindir; üreme olmamışsa sonuç negatif değildir. En az iki yerden, gerekirse korpustan biyopsi alınmalıdır (47).



Şekil-1: Helikobakter Piloni'nin çeşitli ülkelerdeki prevalansı (29, 42, 56).

2-Histolojik Yöntemler: Bu yöntemin en büyük avantajı hem gastritin teşhisinde hem de HP'nin histolojik tespitinde yararlı olmasıdır (16). Warthin-Starry gümüş boyası, İemotoksilen-Eozin, modifiye Giemsa, Gram boyası ve Akriden Oranj boyası kullanılabilir.

3-Üreaz Testi: Biyopsi materyalinin üre içeren ortama konması ve HP üreazının üreyi parçalaması sonucu açığa çıkan amonyak (NH_3) ve bikarbonatın ortamdaki pH'yı yükseltmesi sonucu pH yüksekliğinin renk indikatörü ile gösterilmesi esasına dayanır (16). Üreaz testinin avantajı, üreaz (+) bakterilerin (Yersinia Enterokolitika ve Proteus Vulgaris gibi...) pozitif sonuç vermesidir. Ancak üreaz testi HP'de %75 ilk 20 dakika- 1 saatte, diğer bakterilerde ise 12 saat sonra pozitifleşir. Pratikte sıkça kullanılan CLO (Campylobacter-Like Organism) test, üreaz testi esasına dayanır. Kolay ve hızlı bir testtir.

4-Üre Solunum Testi: Her yerde uygulama olanağı olmayan hassas bir testtir. Aktif karbon (C^{13} ve C^{14}) ile işaretli ürenin ağızdan verilmesinden sonra, bir saat içerisinde nefesle atılan işaretlenmiş karbondioksitin tespit edilmesidir. HP'nin yaptığı üreaz enziminin üreyi parçalayarak , karbondioksit oluşturması esasına dayanır (16,40).

5-Serolojik Yöntemler: HP'ye karşı oluşan antikorun serumda tespit edilmesi esasına dayanır (8,16). IgA yüksekliği lokal mukoza hasarını yansıtan bir bulgudur. IgM erken dönemde yükselir ve düşer (18-60 gün). HP infeksiyonu geçiren kişilerde ise, sürekli olarak kanda IgG tespit edilir. Serolojik yöntemler özellikle prevalans çalışmaları için uygundur. Başarılı tedavi ile IgG miktarı azalır, nüks durumlarında yeniden yükselir. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), hemagglütinasyon, bakteriyel agglütinasyon, kompleman fiksasyonu gibi serolojik yöntemler kullanılabilir.

6-İmmun Floresan ve Elektron Mikroskopisi: Daha çok deneysel araştırma amaçlı tanı yöntemleridir (32).

7-Polimeraz Zincir Reaksiyon Yöntemi (PCR): Son zamanlarda sıkça kullanılan bir tanı yöntemidir. Saklanmış doku örneklerinde çalışma imkanı vermesi en önemli avantajıdır (65).

Tablo-I. Helikobakter Piloni Tanı Yöntemleri (16)

Yöntem	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	Maliyet
Noninvazif			
Seroloji	91	97	+
Üre Solunum Testi	90	96	++
İnvazif			
CLO-test	90	100	++
Kültür	72-92	100	++++
Histoloji	93	99	++++

HELİKOBAKTER PİLORİNİN PATOGENETİK MEKANİZMALARI: HP infeksiyonuna inflamasyon eşlik eder. Goodwin, HP'nin lokal mukozal defansı bozarak, gastroduodenal lezyonların oluşumuna katkıda bulunduğunu öne sürmüştür (Leaking Roof Hypothesis) (25). Buna karşın Levi ve arkadaşları, HP'nin antral gastrin salınımını artırdığını ve bunun da gastrointestinal lezyonlar ile sonuçlanan mide asit salınımına sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir (Gastrin-Link Hypothesis) (38).

HP, patojenik mekanizmalar ve virulan faktörlerle etkisini oluşturur. Virulan faktörlerin bir kısmı, HP'nin mide lümeninde yerleşmesine, çevreye yayılmasına, mide mukusuna ve mukozaya tutunabilmesine neden olurlar.

HP'nin Virulan Faktörleri (51):

Kolonizasyonu Artıranlar

1. Motilite
2. Üreaz
3. Hipoklorhidrinin oluşumu
4. Adherans (Yapışma)
5. P tip ATPase

Doku Hasarını Artıranlar

1. Lipopolisakkarid
2. Lökosit toplanma ve aktivasyon faktörleri
3. *Cag A* ve *Vac A* proteinleri
4. Sıcak şok proteinleri

1. Lipopolisakkarid: Glikolipid ailesindedir. Özellikle lipid A komponenti, sitokinler ve

endotoksik ürünlerin salınımını uyarır (46).

2. Lökosit toplanma ve aktivasyon faktörleri: Lipopolisakkaridden bağımsız pekçok yüzey proteini kemotaktik özellik göstererek monosit ve nötrofillerin lamina propriaya toplanmasına ve inflamatuvar hücrelerin aktivasyonuna neden olur (21).

3. *Cag A* ve *Vac A* proteinleri: HP suşlarının yaklaşık %50'si ökaryotik hücrelerde vakuol formasyonu oluşturan toksin yapısında bir madde üretirler (37). Vakuolasyondan sorumlu protein pürifiye edilmiş ve toksini (vacuolating cytotoxin activity ---*Vac A*) kodlayan gen klonlanmıştır. Bu gen 140.000 molekül ağırlığında bir proteini kodlar ve bu da 90.000 molekül ağırlığında matür toksine dönüşür (5). Tüm HP örneklerinde *Vac A* geni vardır fakat sadece %50'si matür toksin oluşturur. Fare deneyleri göstermiştir ki bu toksin şiddetli mukozal hasara neden olmamaktadır (60). *Vac A* geninin orta bölgesinin allelinin iki ailesi (middle region --- m1, m2) ve sıralı uyarı allelinin üç ailesi (signal sequence --- s1a, s1b,s2) vardır (5). Bakterinin s2m1 tipinin olmadığı, s2m2 tipinin ise toksin üretmediği belirtilmektedir. Buna karşın s1m1 örneklerinin %80'den fazlasının, s1m2 örneklerinin ise yaklaşık %30'unun toksin ürettiği ile ilgili çalışmalar mevcuttur (5).

Vakuol oluşturan sitotoksin ile ilişkili diğer protein *Cag A*'dır (5). Yüksek molekülü (120.000-140.000 Dalton), oldukça antijenik, yoğun proteinlerin bir ailesini şifreleyen *Cag A* geni HP örneklerinin yaklaşık %60'ında mevcuttur (5). Ancak farklı coğrafik bölgelerde *Cag A* pozitifliği çok değişkendir (33,39). *Cag A* geni sadece s1 uyarı tipi örneklerinde bulunmuştur. *Cag A* ile duodenal ülser, atrofik gastrit ve adenokarsinoma arasındaki birliktelikten söz edilmiş (7,13,14,58), bununla beraber tüm çalışmalar aynı sonucu vermemiştir (45). *Cag A* içeren HP örnekleri ile enfeksiyonun, daha yoğun bakteri, daha şiddetli inflamasyon ve daha çok interlökin-8 üretimi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (1,57). Diğer ülke ve araştırmacılar gelen farklı sonuçlar *Cag A*'nın bir marker olabilme özelliğini azaltmıştır (22). Gerçekten, *Cag A* içermeyen HP örnekleri de hücre vakuolasyonu ve interlökin-8 üretimi yapabilmektedir (62).

4. Sıcak şok proteinleri: HP iki sıcak şok proteini üretir (heat shock protein --- HspA ve HspB)(31). Bu proteinler oldukça antijeniktirler, ancak enfeksiyonun patogenezindeki rolleri tam bilinmemektedir.

PEPTİK ÜLSER, NON-ÜLSER DİSPEPSİ VE GASTRİTLER

Peptik ülser hastalığı basitçe, mide asiti ile temasta bulunan gastrointestinal mukozada, koruyucu faktörlerin azalması veya saldırgan nedenlerin artması sonucu meydana gelen mukozal zedelenme olarak tanımlanır (Tablo-II). HP gerek koruyucu faktörleri azaltmak, gerekse en önemli saldırgan neden olan asit-pepsinin gücünü artırmak suretiyle peptik ülsere neden olur.

HP pozitifliği duodenal ülserde ortalama %90, mide ülserinde ise %65 civarındadır (41). Ülkemizde yapılan bir çalışmada (56), üst gastrointestinal endoskopi için başvuran hastalarda HP (+)'liği %86, peptik ülseri olanlarda %91 bulunmuştur. Cullen ve arkadaşlarının geriye yönelik 25 yıllık bir araştırmasına göre, 407 kişilik bir grupta HP (+) kişilerde duodenal ülser

oranı %15 iken, HP (-) olanlarda %3 olarak saptanmıştır (15). Tüm bu veriler HP ile peptik ülser hastalığı arasında belirgin bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır.

Tablo-II. Peptik ülser etyopatogenezinde rol oynayan faktörler (6)

<u>1-Saldırgan faktörler</u>	<u>2-Koruyucu faktörler</u>
Asit	Vasküler endotel ve bazal membran bütünlüğü
Pepsin	Mukozal kan akımı
Non-steroid antiinflamatuvar ilaç	Yüzeyel epitel rejenerasyonu
Steroid	Bikarbonat sekresyonu
Alkol	Mukus sekresyonu
Sigara	Lokal prostaglandin sentezi
Helikobakter pilori	Fosfolipidler

NUD, radyolojik ve endoskopik yöntemlerle saptanan belirgin yapısal anormallik

olmaksızın, aralıklı veya devamlı üst gastrointestinal semptomlarla karakterize bir durumdur

(2). Diğer adıyla fonksiyonel dispepsi olarak bilinen bu hastalığın en sık görülen semptomları, tablo-III'de görülmektedir.

HP, NUD'li hastaların %43-87'sinde saptanmıştır. NUD'li hastalarda HP prevalansındaki

bu büyük değişkenlik, hem NUD tanısı için gerekli kriterlerin farklılığından hem de incelenen popülasyonun farklılığından kaynaklanmaktadır (34).

Gastrit, mide mukozasının inflamasyonudur. Bu durum bilinen bir etkene bağlı, ani olarak

ortaya çıkmış ise ve etkenin uzaklaştırılması ile hızla düzeliyor ise akut gastrit söz konusudur.

Genellikle, antrumun ön planda tutulduğu bu durumda, histoloji, nonspesifik akut iltihabi

reaksiyonun yanı sıra değişik derecelerde ödem, konjesyon, hemoraji, nekroz ve erozyonlar

Tablo-III. Fonksiyonel dispepsinin semptomları (2)

Abdominal ağrı ve rahatsızlık
Postprandial dolgunluk
Geğirti
Erken doyunluk
Bulantı, kusma
Retrosternal yanma
Regürjitasyon

gösterir. Mononükleer hücrelerde artış, atrofi, metaplazi saptanmaz. Endoskopide ise ödem, peteşi, submukozal hemoraji, erozyonlar ve ülserler görülebilir (55).

Kronik gastritin klinik ve patolojik özellikleri ise, etyolojinin ve virulansın yanı sıra, kişinin genetik olarak belirlenmiş immün yanıtı ve ilave çevresel faktörlerin etkisinde olan bir heterojenite gösterir. Histopatolojik olarak lamina propriadaki lenfoplazmositer infiltrasyon ile karakterizedir. Kronik gastrit tanısında predomnan inflamasyon bölgesi, inflamasyonun derinliği, inflamasyon hücrelerinin tipi, yüzeysel ve foveolar epitelin durumu, gland kaybı, HP, metaplazi ve endokrin hücre hiperplazisinin belirlenmesi önemlidir (55).

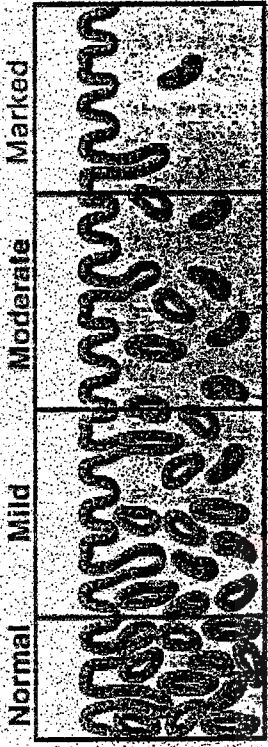
Gastritler bugüne kadar pekçok yaklaşım tarzında ele alınmış ve sınıflandırılmıştır (Tablo-IV). En son kabul gören sınıflandırma olan Sydney Sistemi Tablo-V'te özetlenmiştir. Bu sınıflandırmada makroskopi ile mikroskopiye bir arada değerlendirmek amaçlanmıştır.

Tablo-IV. Değişik araştırcılar tarafından daha önce yapılan gastrit sınıflamaları

Whitehead	Strickland, Mackay	Glass, Pitchumoni	Correa
1972 (66)	1973 (59)	1975 (23)	1988 (9)
<u>Morfolojik</u>	<u>Topografik</u>	<u>Topografik</u>	<u>Atrofiye göre</u>
Kronik süperfisiel			Kronik süperfisiel
Kronik atrofik	Tip A: Korpus, PC ab.(+)	Tip A: Korpus	Diffüz korporal atrofik
	Tip B: Antrum PC ab.(-)	Tip B: Antrum	Diffüz antral
		Tip AB: Antrum+korpus	Multifokal atrofik

Tablo-V. Sydney sistemi (55)

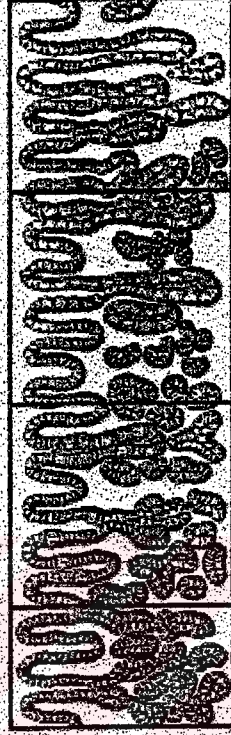
	1-Akut gastrit	2-Kronik gastrit	3-Spesifik gastrit
<u>Etyoloji</u>	<u>Topografi</u>	<u>Morfoloji (Şekil -2(17))</u>	
Enfeksiyöz	Antral	İnflamasyon (yok:0, hafif:1, orta:2, ağır:3)	
Otoimmün	Fundik	Aktivite (yok:0, hafif:1, orta:2, ağır:3)	
Toksik	Pangastrit	Atrofi (yok:0, hafif:1, orta:2, ağır:3)	
		İntestinal metaplazi (yok:0, hafif:1, orta:2, ağır:3)	
		HP (yok:0, az:1, orta:2, çok:3)	



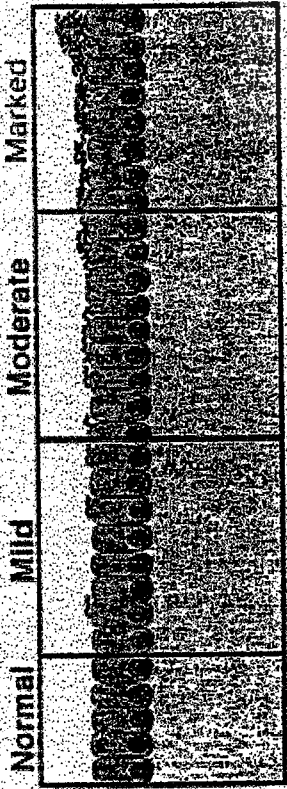
Atrophy: Antrum



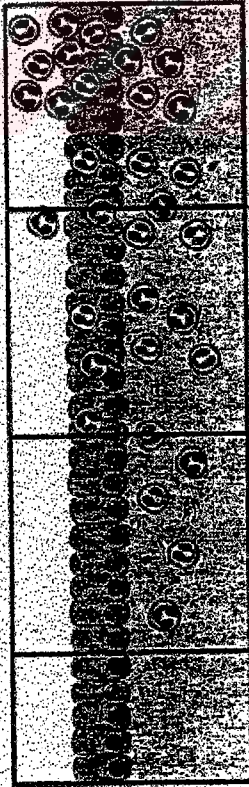
Atrophy: Corpus



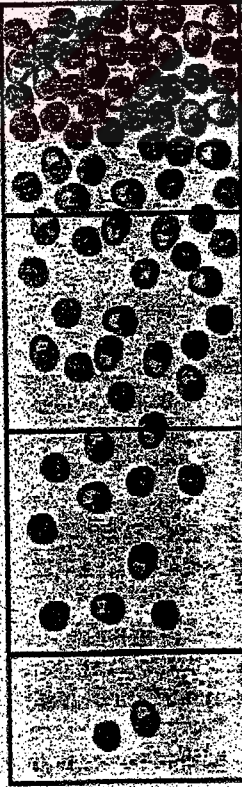
Intestinal Metaplasia



H. pylori



Neutrophils



Mononuclear Cells

Şekil-2. Histopatolojik Skorlama (17).

GEREÇ VE YÖNTEM

HASTALAR VE ÇALIŞMA DÜZENİ

Bu çalışma Kasım 1998 - Mayıs 1999 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Gastroenteroloji Polikliniğine, mide şikayetleri ile müracaat edip, özefagogastroduodenoskopi uygulanan erişkin hastalarda gerçekleştirildi.

Çalışmada dışlama kriterleri:

- a) Mide ameliyatı geçiren hastalar
- b) Kolesistektomili hastalar
- c) Sirotik hastalar
- d) Bilinen malignitesi olan hastalar
- e) Kronik böbrek yetmezlikli hastalar
- f) Kronik alkolikler
- g) Kronik nonsteroid antiinflatuar veya steroid kullanan hastalar
- h) Son bir aydır Bizmut preparatı, proton pompa inhibitörü, H₂ reseptör blokeri veya antibiyotik kullananlar
- i) Son iki gündür antiasit kullanan hastalar
- j) Endoskopisi normal olup batın ultrasonografisinde şikayetlerine neden olabilecek lezyon saptananlar (Kolelitiazis, kitle, lenfadenopati,... gibi.)
- k) Endoskopiye uyum sağlayamayan hastalar

Çalışmaya 33'ü kadın, 27'si erkek olmak üzere toplam 60 hasta alındı. HP negatif olan 9'u kadın, 5'i erkek hasta, kontrol grubunu oluşturdu. HP (+) olan 24'ü kadın, 22'si erkek olmak üzere toplam 46 hastada *Cag A* serolojisi çalışıldı. 37 hastada *Cag A* (+), 9 hastada ise *Cag A* (-) bulundu (Tablo-VI).

Tablo-VI. Hastaların özellikleri.

	HP(+)Cag A(+), n=37	HP(+) Cag A (-), n=9	HP (-), n=14
Erkek	19 (%51,3)	3 (%33,3)	5 (%35,7)
Kadın	18 (%48,7)	6 (%66,7)	9 (%64,3)
Yaş ortalaması	38,05 ± 13,89 (19-66)	51,22 ± 16,40 (27-73)	42,14 ± 13,97 (24-64)

YÖNTEM

1. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara videoözefagogastroduodenoskopi yapıldı ve görüntü iki endoskopist tarafından değerlendirildi. Endoskopik işlem esnasında fundustan bir adet, korpustan iki adet, antrumdan iki adet biyopsi alındı. Korpustan ve antrumdan alınan ikişer biyopsiden birer tanesi CLO-test için kullanıldı, diğerleri ile histopatolojik inceleme yapıldı. Fundustan alınan tek biyopsi ise histopatolojik inceleme için gönderildi.

İşlem sonrasında endoskopik görünüm rapor edildi, CLO-test değerlendirildi ve formaldehit içindeki biyopsi materyalleri Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi (G.A.T.A. H.E.H.) Patoloji Servisi'ne gönderildi.

2. İşlem günü hastalardan 5 ml. periferik venöz kan alınarak Cag A serolojisi için G.A.T.A. H.E.H. Mikrobiyoloji Servisi'nde serumu ayrılarak -20°C'de bekletildi.

HP mevcudiyeti, CLO-test ve histolojik yöntemle belirlendi, HP negatif hastalar kontrol grubunu oluşturdu.

Histolojik boyama yöntemi olarak Hemotoksilen -Eozin boyası kullanıldı ve materyaller aynı patolog tarafından Sydney sistemine göre değerlendirildi. Her üç biyopsi materyalinden elde edilen en yüksek skor geçerli kabul edildi. Patolog incelemeyi yaparken vakanın Cag A durumu hakkında kör tutuldu.

CLO-test ile veya histolojik olarak HP pozitifliği saptanan hastalarda *Cag A* serolojisi çalışıldı. Serolojik incelemede, rekombinant HP *Cag A* (*Helicobacter p120* EIA, VIVA Diagnostica, Hürth, Germany® Şekil-3) ELISA yöntemiyle *Cag A*'ya karşı serumdaki IgG antikor düzeyi saptandı. Antikor düzeyi $\geq 7,5$ ünite (veya absorbans $\geq 0,300$) ise test pozitif olarak değerlendirildi. Bu test, immunoblot tekniğiyle karşılaştırıldığında sensitivitesi %96,2 ve spesifitesi %96,6'dır (67). 96'lık *Cag A* kiti 830 Alman markı karşılığı temin edildi.

Endoskopik incelemeler:Üst gastrointestinal endoskopik incelemeler, Fujinon EG 200 FP Videogastroskop kullanılarak yapıldı. Endoskop ve biyopsi forsepsleri, %10 süksinik asit ve dimetoksi- tetrahidrofurana (Gigasept®) içerisinde 15 dakika süre bekletilerek dezenfekte edildi.

Endoskopik inceleme öncesinde %10'luk sprey lidokain (Xylocaine®) ile topikal anestezi, gerek duyulan hastalara da 2-2,5 mg. Midazolam (Dormicum®) ile premedikasyon uygulandı.

Hızlı üreaz testi:Hızlı üreaz testi için Delta West Ltd. firmasının CLO test® adlı hazır kiti kullanıldı. CLO test® 50 slaytlık kutular halinde bulunmaktadır ve her bir slayt ağzı kapalı, plastik küçük kaplar içerisinde üre, pH endikatörü olarak fenol kırmızısı, tamponlar ve bakteriyostatik ajanlar bulunan bir jel içermektedir. Kap içerisinde konulan biyopsi materyali eğer HP içeriyorsa, oluşan degradasyon, slayt içeriğinin pH'sının yükselmesine ve sonuçta jelin renginin sarıdan turuncu/kırmızıya dönüşmesine neden olmaktadır. Biyopsi materyali alındıktan sonra steril bir 19G iğne ile biyopsi forsepsinden alınıp CLO test® jeli içerisine yerleştirildi. Materyal tamamen jel içerisine batınca slaytın ağzı kapatıldı, 3 saat endoskopistin cebinde, pozitifleşmemişse daha sonra da oda koşullarında bekletilerek 24. Saatte kesin değerlendirilme yapıldı.

İstatistiksel İncelemeler:Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken χ^2 ve Lineer Trend için χ^2 testleri uygulandı. $P < 0,05$ anlamlı olarak değerlendirildi.



Şekil-3: Helikobakter Piloni Cag-A kiti.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 60 hastanın 33'ü kadın, 27'si erkek idi. Yaş dağılımı 19 ile 73 arasında leğışmekte ve ortalama yaş $40,98 \pm 14,79$ idi.

CLO-test ile ve histolojik inceleme sonrası 14 hastada HP (-), 46 hastada ise HP (+) bulundu. HP (-) 14 hastanın 5'i erkek 9'u kadın olup yaş ortalaması $42,14 \pm 13,97$ idi. HP (+) hastaların 22'si erkek 24'ü kadın olup yaş ortalaması $(40,63 \pm 15,16)$ idi. HP (+) ve HP (-) tesbit edilen hasta gruplarında yaş ortalamaları ve kadın/erkek oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Tablo-VII).

Tablo-VII. HP (+) ve HP(-) grup hastaların özellikleri.

	HP (+) n (%)	HP (-) n (%)
Erkek	22 (47,82)	5 (35,71)
Kadın	24 (52,18)	9 (74,29)
Yaş Ortalaması	$40,63 \pm 15,16$	$42,14 \pm 13,97$

Cag A serolojisi sonuçları: *Cag A*, HP (+) 37 hastada (%80,4) pozitif, 9 hastada (%19,6) ise negatif bulundu. *Cag A* (-) 9 hastanın 3'ü erkek, 6'sı kadın olup yaş ortalaması $51,22 \pm 16,40$ idi. *Cag A* (+) hastaların 19'u erkek, 18'i kadın olup, yaş ortalaması $38,05 \pm 13,89$ idi. *Cag A* (+) ve *Cag A*(-) hasta gruplarında yaş ortalamaları ve kadın/erkek oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,05$) (Tablo-VI).

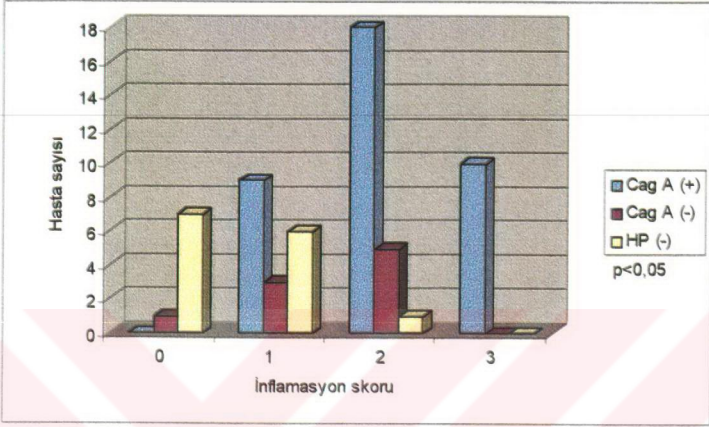
HP (-), *Cag A* (-) ve *Cag A* (+) hasta gruplarının histopatolojik skorları Sydney sistemine göre Lineer Trend için χ^2 testi ile değerlendirildi (Tablo-VIII).

Fablo-VIII: HP (-), Cag A(-) ve Cag A (+) hastalarda, histolojik özelliklerin karşılaştırılması.

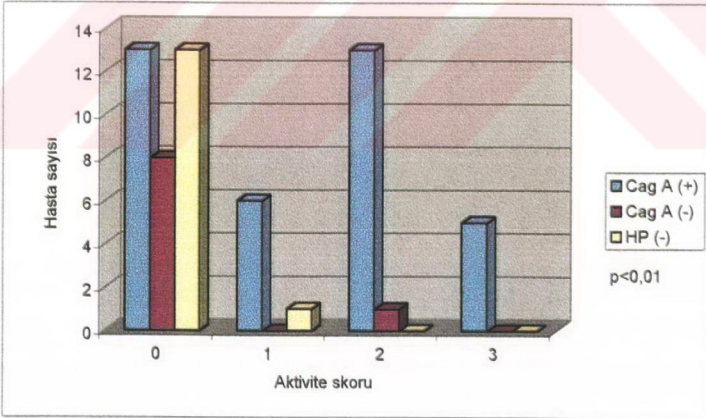
	Skor	Cag A (+) n=37	Cag A (-) n=9	HP (-) N=14	p değeri CagA (+) ile (-)	p değeri. CagA (-) ile HP (-)
İnflamasyon	0	0	1	7	p<0,05	p<0,01
(Mononükleer Hücre)	1	9	3	6		
	2	18	5	1		
	3	10	0	0		
Aktivite	0	13	8	13	p<0,01	p>0,05
(Polimorfonükleer hücre)	1	6	0	1		
	2	13	1	0		
	3	5	0	0		
Atrofi	0	13	8	14	p<0,01	p>0,05
	1	10	1	0		
	2	9	0	0		
	3	5	0	0		
İntestinal Metaplazi	0	28	5	14	p>0,05	p<0,05
	1	6	3	0		
	2	3	1	0		
	3	0	0	0		
HP	0	0	2	14	p>0,05	p<0,0005
	1	8	1	0		
	2	26	5	0		
	3	3	1	0		

HP (+) olan Cag A (+) ve (-) gruplar arasında , inflamasyon skoru (p<0,05) (Şekil-4), aktivite skoru (p<0,01) (Şekil-5) ve atrofi skoru (p<0,01) (Şekil-6) açısından anlamlı fark varken; intestinal metaplazi (p>0,05) (Şekil-7) ve HP yoğunluğu (p>0,05) (Şekil-8) açısından

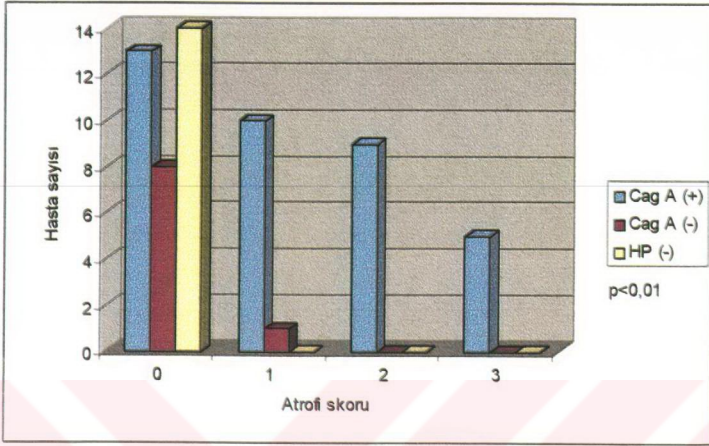
anlamli fark yoktu. HP (+) olan Cag A (+) ve (-) grup ile HP (-) grup, intestinal metaplazi acısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamli fark vardı ($p<0,05$).



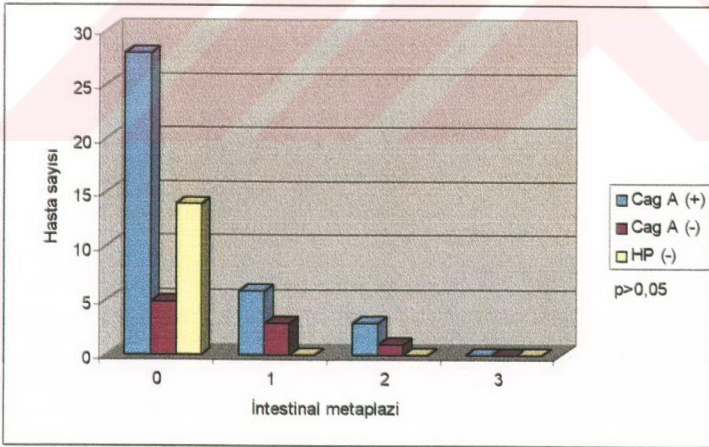
şekil-4: İnflamasyon skoruna göre hasta sayılarının dağılımı.



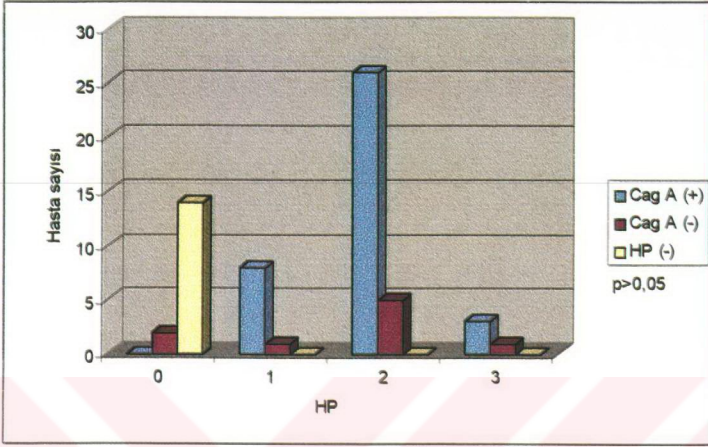
şekil-5: Aktivite skoruna göre hasta sayılarının dağılımı.



Şekil-6: Atrofi skoruna göre hasta sayılarının dağılımı.



Şekil-7: İntestinal metaplazi skoruna göre hasta sayılarının dağılımı.



Şekil-8: HP yoğunluğuna göre hasta sayılarının dağılımı.

Özefagogastroduodenoskopi sonuçlarına göre hastalar incelendiğinde; 13 hastada duodenal ülser, 1 hastada mide ülseri, 46 hastada NUD saptandı. HP pozitifliği incelendiğinde; duodenal ülserli hastaların 12'sinde (%92,3) ve mide ülserli hastada (%100) HP (+) idi. NUD'li hastaların ise 33'ünde (%71,7) HP pozitifliği görüldü. Ülserli hastalar, NUD'li olanlara göre daha yüksek oranda HP pozitifliğine sahipti ve farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,05$).

Cag A pozitifliği açısından bakıldığında; duodenal ülserli hastaların 12'sinde (%92,3), NUD'li hastaların 25'inde (%54,3) *Cag A*(+), mide ülserli hastada *Cag A* (-) saptandı. HP (+) peptik ülserli hastaların 12/13 (%92,3)'ünde *Cag A*(+) iken, HP (+) NUD'li hastaların 25/33 (%75,7)'sinde *Cag A*(+) olduğu görüldü. HP (+) peptik ülserli hastalarda, HP (+) NUD'li olanlara göre anlamlı bir şekilde daha yüksek oranda *Cag A* pozitifliği gözlenmiştir ($p < 0,05$). HP (+) duodenal ülserli hastaların tamamında *Cag A*(+) idi (Tablo-IX).

Tablo-IX. Ülser ve non-ülser dispepsili hastalarda HP Cag A pozitifliği.

	Cag A(+) n=37	Cag A(-) n=9	HP(-) n=14	HP(+)% ,Cag A(+)%
Duodenal ülser n=13	12/13	–	1/13	%92,3 - %92,3
Mide ülseri n=1	–	1/1	–	%100 - %0
Non-ülser dispepsi n=46	25/46	8/46	13/46	%71,7 - %54,3

TARTIŞMA VE SONUÇ

HP'nin kronik aktif gastrit ve peptik ülserde önemli ve merkezi bir rol oynadığı bilinmektedir (64). Yaklaşık olarak duodenal ülserde %90, mide ülserinde %65 hastada aktif HP infeksiyonu saptanmıştır (41). Ülkemizde yapılan bir çalışmada, üst gastrointestinal sistem endoskopisi için başvuran hastalarda HP pozitifliği %86, peptik ülseri olanlarda ise %91 bulunmuştur (56). Bizim çalışmamızda toplam 60 hastanın 46'sında (%76,7), peptik ülserli 14 hastanın ise 13'ünde (%92,8) HP (+) bulunmuştur. Çalışmamızdaki tüm hasta grubunda HP pozitifliğinin, Sandıkçı ve ark.'nın (56) sonuçlarından farklı olmasının nedeni; hastalarımızın genç olması ve sosyoekonomik durumlarının ülkemiz geneline göre daha iyi olmasından kaynaklanmış olabilir.

Dünya popülasyonunun yaklaşık yarısının aktif HP infeksiyonu taşıdığı tahmin edilmesine rağmen, az bir kısmında (<%20) peptik ülser gelişmektedir (15). Kişisel ve çevresel faktörlerin yanında bakterinin virulan faktörlerinin de, bu sonuçta etkili olabileceği düşünülmüştür.

İlk olarak Leunk ve ark. 1988 yılında sitotoksin üretebilen HP örneklerini tanımladılar (37). İn vitro olarak HP örneklerinin yaklaşık olarak %50'si kültür epitel hücrelerinde vakuolizasyonu indükleyen sitotoksini üretirler (37). Bu sitotoksinin üretiminden 94 kDa. ağırlığında bir protein olan vakuol oluşturan sitotoksin aktivitesi (*Vac A*) ve 128 kDa. ağırlığında bir protein yapısında olduğu bilinen cytotoxin associated gene (*Cag A*) sorumlu tutulmaktadır (10,67).

Cag A pozitifliği HP örneklerinin yaklaşık %60'ında mevcuttur (5). Ancak farklı coğrafik bölgelerde *Cag A* pozitifliği çok değişkendir (33,39).

Lage ve ark. (33) Belçika'da 68 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada *Cag A* pozitifliğini PCR yöntemiyle tespit etmişlerdir. HP (+) 34 Belçika'lı ve HP (+) 34 Fas'lı

(Belçika'da yaşayan Fas'lı) hasta üzerinde yaptıkları çalışmada 29 (%85,3) Belçika'lı hastaya karşı, sadece 12 (%35,3) Fas'lı hastada *Cag A* (+) olduğunu ($p<0,001$) belirtmişlerdir.

Maeda ve ark.'ları (39) Japonya'da 68 HP (+) hasta üzerinde yaptıkları ve 1998'de yayınlanan bir çalışmada *Cag A* pozitifliğini immunoblot yöntemiyle ölçerek tüm hastalardaki seroprevalansı 61/68 (%90) olarak bildirmişlerdir.

Ülkemizde *Cag A* seroprevalansı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda 46 HP (+) hastanın 37'sinde (%80,4) *Cag A* (+) olduğu ELISA yöntemiyle gösterilmiştir.

Cag A ile duodenal ülser, atrofik gastrit ve mide adenokarsinomu arasındaki birliktelikten söz eden pekçok yayın mevcuttur (7,13,14,58). Bununla beraber tüm çalışmalar aynı sonucu vermemiş (45), *Cag A* içeren HP örnekleri ile infeksiyonun daha yoğun bakteri, daha şiddetli inflamasyon ve daha çok interlökin-8 üretimi ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (1,57). Diğer ülke ve araştırmacıardan gelen farklı sonuçlar *Cag A*'nın bir marker olabilme özelliğini azaltmıştır (22,39).

Crabtree ve ark. (14) 1989-91 yılları arasında İngiltere'de 70 mide kanserli HP (+) hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada *Cag A* pozitifliğini ELISA yöntemiyle %91 olarak bulmuşlar, kontrol grubu olarak HP (+) 47 NUD'li hastada *Cag A* pozitifliği %72 olarak bulunmuş ve ikisi arasındaki fark anlamlı olarak değerlendirilmiştir

Cover ve ark. (13) 1989-93 yılları arasında Belçika'da HP (+) 96 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada *Cag A* pozitifliğini hem immunoblot, hem de ELISA yöntemiyle çalışmışlar ve hastaların 32'sinde duodenal ülser, 25'inde mide ülseri, 39'unda NUD saptamışlardır. İmmunoblot yöntemi ile duodenal ülserli hastaların 26'sında (%81,3), mide ülserli hastaların 17'sinde (%68), NUD'li hastaların 23'ünde (%59) *Cag A* pozitifliği bulmuşlardır. ELISA yöntemiyle bakıldığında ise duodenal ülser, mide ülseri ve NUD'de *Cag A*

pozitifliğini sırasıyla %87,5 - %76 - %56,4 olarak saptamışlardır. ELISA yöntemi sonuçlarına göre duodenal ülser ile NUD'li hastalar arasındaki *Cag A* pozitiflik farkının anlamlı olduğu görülmüştür ($p=0.004$). Bu bulgular *Cag A* pozitifliği ile duodenal ülser varlığı arasında bir ilişki olduğunu ve ELISA yönteminin *Cag A* (+) enfeksiyonu tespit etmede duyarlı bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Sozzi ve ark. (58) İtalya'da 1994-95 yıllarında 120 dispeptik hastaya endoskopi yapmışlar; 80 hastada (%66) HP (+) bulup, immunoblot yöntemi ile bunların 53'ünde (%66) *Cag A* (+), 27'sinde (%34) ise *Cag A* (-) bulmuşlardır. Hastaların endoskopik biyopsilerini Sydney sistemine göre değerlendirdiklerinde, ortalama yaşları benzer olan *Cag A* (+) ve (-) grup arasında atrofi ($p=0.006$), intestinal metaplazi ($p=0.01$), mononükleer hücre infiltrasyonu ($p<0.001$) ve polimorfonükleer hücre infiltrasyonu ($p=0.002$) açısından *Cag A* (+) grupta daha yüksek olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı fark bulmuşlardır. Her iki grup arasında HP yoğunluğu yönünden anlamlı fark bulunmamıştır. Bu bulgular *Cag A* (+) grupta gastritin şiddetinin daha yüksek olmasına ek olarak, atrofi ve intestinal metaplazi prevalansında yükseklik olduğunu göstermektedir.

Ching ve ark.'larının (7) Çin'de yaptığı ve HP (+) 297 peptik ülser, 45 NUD ve 100 asemptomatik kontrol hastasından oluşan çalışmada ELISA yöntemiyle bakıldığında, 197 duodenal ülserli hastanın 165'inde (%84), 100 mide ülserli hastanın 80'inde (%80), 45 NUD hastasının 25'inde (%55.6) ve 100 asemptomatik kontrol hastasının 29'unda (%29) *Cag A*'nın (+) olduğu saptanmıştır. Bulgular peptik ülserli hastaların NUD'lilere ($p<0.005$) ve asemptomatik kontrol grubuna göre ($p<0.001$) anlamlı olarak daha yüksek oranda *Cag A* pozitifliğine sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Atherton ve ark. (1), HP (+) 12 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada duodenal ülser gelişiminde *Cag A* pozitifliğinden çok bakteri yoğunluğunun önemli olduğunu ve bunun kantitatif kültür yöntemiyle ölçülebileceğini belirtmişlerdir.

Genta ve ark.'nın (22) bir çalışmasında 37 HP (+) NUD'li hastadan 16'sında (%43.2) *Cag A* pozitif olduğu tespit edilmiş; hastaların mide antrum ve korpusundan alınan biyopsilerinde HP sayısı, polimorfonükleer hücre yoğunluğu, mononükleer hücre infiltrasyonu yönünden incelenmiş; sadece *Cag A* pozitif kişilerin antrumundan alınan biyopsilerinde mononükleer hücre infiltrasyonunun daha fazla olduğu görülmüş ve *Cag A* ile aktif mukozal inflamasyon arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Mitchell ve ark. (45) Avustralya yerlileri ve Çin'de *Cag A* pozitifliğini immunoblot yöntemiyle, HP (+) 19 Avustralya'lı kan donörü, 96 Avustralya'lı NUD hastası, 29 Avustralya'lı duodenal ülser hastası, 35 asemptomatik Çin'li ve 48 mide kanserli Çin'li hasta üzerinde çalışmışlardır. Hem Avustralya'lı duodenal ülser hastalarının hem de Çin'li mide kanserli hastaların, kontrol grubu ile karşılaştırılmasında *Cag A* seroprevalansı yönünden anlamlı bir ilişki bulunamamış, buna göre *Cag A*'nın ciddi gastroduodenal hastalıkların oluşumuyla ilişkili olmadığı, bu genin önemli olabileceği ancak bazı hastalıkların oluşumunda tek başına etkin olmadığı belirtilmiştir.

Maeda ve ark. (39) *Cag A* pozitifliğini immunoblot yöntemiyle HP (+) 68 hasta üzerinde çalışmışlar ve 16 mide ülserli hastanın 15'inde (%94), 17 duodenal ülserli hastanın 15'inde (%88), 25 NUD'li hastanın 21'inde (%84), 10 mide kanserli hastanın 10'unda (%100) *Cag A*'yı pozitif olarak saptamışlardır. *Cag A* pozitifliği ile gastrointestinal hastalık arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmanın sonucuna göre *Cag A* pozitifliğinin gastrointestinal hastalıkların ayırımında kullanılamayacağı belirtilmiştir.

Bizim çalışmamızda ELISA yöntemiyle baktığımızda *Cag A* seroprevalansını, HP (+) duodenal ülserli hastaların tamamında (12/12, %100) ve HP (+) NUD'li hastalarımızın 25/33 (%75,7)'sinde saptadık. Mide ülserli hastamızda ise *Cag A* (-) idi. HP (+) duodenal ülserli hastalarımızda, HP (+) NUD'li hastalarımıza göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek oranda *Cag A* pozitifliği görülmüştür ($p<0,05$). Bu bulgu, *Cag A*'nın önemli bir virulan faktör olduğunu destekler niteliktedir.

Çalışmamızda *Cag A* (+) ve *Cag A* (-) gruplarımız histolojik özellikleri yönüyle Sydney sistemine göre karşılaştırıldığında; aralarında istatistiksel olarak inflamasyon skoru ($p<0,05$), aktivite skoru ($p<0,01$) ve atrofi skoru ($p<0,01$) açısından fark varken, intestinal metaplazi skoru ($p>0,05$) ve HP yoğunluğu ($p>0,05$) açısından anlamlı fark yoktu. Her iki grubumuz, kontrol grubuna göre intestinal metaplazi yönünden anlamlı olarak daha yüksek skora sahipti ($p<0,05$). Histolojik özellikler yönüyle çalışmamızdaki bu sonuçlar, Sozzi ve ark.'nın (58) sonuçlarına uymaktadır. İntestinal metaplazideki uyumsuzluk, *Cag A* (-) grubumuzun az sayıda olmasından kaynaklanmış olabilir.

Yine *Cag A* (+) ve *Cag A* (-) olan iki grubumuzda HP yoğunluğu benzer olmasına rağmen, *Cag A* (+) grupta daha ileri düzeyde gastrit ve atrofi saptanması; Atherton ve ark.'nın (1) belirttiğinin aksine, HP yoğunluğundan çok *Cag A* pozitifliğinin daha önemli olduğunu düşündürmektedir.

Cag A pozitifliğinin önemli gastrointestinal hastalıklar ile ilişkisi konusunda lehte ve aleyhte pekçok çalışma olmasına rağmen, geniş hasta serili veya çok merkezli bir çalışmaya rastlanmamıştır. Aynı coğrafik bölgeyi kapsayan çok merkezli bir çalışma planlanması, konunun netleşmesine katkıda bulunabilir.

Gastrointestinal sistem hastalarının sayıca önemli bir kısmını NUD'li hastalar oluşturmaktadır. Bizim çalışmamızda 60 hastanın 46'sında (%76,7) NUD saptadık. 46 NUD

hastanın 33'ünde (%71,7) HP (+) idi. NUD'li hastalarda HP eradikasyonu gerekip gerekmediği konusunda net görüşler bildirilmemiştir. Bizim çalışmamız ile Sozzi ve ark.'nın çalışmasına (58) göre *Cag A* (+) grupta ileri düzeyde gastrit ve atrofi gelişmesi nedeniyle *Cag A* (+) NUD'li hastalara eradikasyon tedavisi verilebilir.

Bizim çalışmamızda görüldüğü gibi, tüm NUD hastalarının yaklaşık yarısı *Cag A* (-)'dir. NUD'li hastalarda HP bakmak yerine ucuz ve kolay uygulanan serolojik bir test olan *Cag A* bakıp, pozitifse eradikasyon tedavisi vermek daha ekonomik ve akılcı olabilir.

Cag A pozitifliği ile mide kanseri arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda, farklı coğrafik bölgelerden farklı sonuçlar bildirilmiştir (14,39,45). Bizim çalışmamızda mide kanseri ile *Cag A* ilişkisini inceleme amacımız yoktu ve kanser varlığı çalışmamızda dışlama kriteriydi. Mide adenokanserli hastalarda *Cag A* seroprevalansı ayrı bir çalışma konusu olarak değerlendirilmelidir.

S O N U Ç

1. Ülkemizde *Cag A* seroprevalansı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamızda 60 hastanın 46'sında (%76,7) HP (+), 46 HP (+) hastanın da 37'sinde (%80,4) *Cag A* (+) olduğu ELISA yöntemiyle saptanmıştır.
2. HP (+) duodenal ülserli hastaların 12/12 (%100)'ünde ve HP (+) NUD'li hastalarımızın 25/33 (%75,7)'sinde *Cag A* pozitifliği saptadık. Mide ülserli hastamızda ise *Cag A* (-) idi. HP (+) duodenal ülserli hastalarımızda, HP (+) NUD'li hastalarımıza göre istatistiksel olarak daha yüksek oranda *Cag A* pozitifliği gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna göre *Cag A*'nın önemli bir virulan faktör olduğu kanaatindeyiz.

3. Çalışmamızda *Cag A* ve *Cag A* (-) gruplarımız histolojik özellikleri yönüyle Sydney sistemine göre karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak inflamasyon skoru ($p<0,05$), aktivite skoru ($p<0,01$) ve atrofi skoru ($p<0,01$) açısından anlamlı fark varken, intestinal metaplazi skoru ($p>0,05$) ve HP yoğunluğu ($p>0,05$) açısından anlamlı fark yoktu. Her iki grubumuz, kontrol grubuna göre intestinal metaplazi yönünden anlamlı olarak daha yüksek skora sahipti ($p<0,05$). Her iki grupta HP yoğunluğu benzer olmasına rağmen, *Cag A* (+) grupta daha ileri düzeyde gastrit ve atrofi saptanması, *Cag A* pozitifliğinin önemini göstermektedir.
4. Çalışmamızda görüldüğü gibi tüm NUD hastalarının yaklaşık yarısı *Cag A* (-)'dir. *Cag A* (+) hastalarda gastritin daha şiddetli, atrofinin de daha sık görüldüğü göz önüne alınarak NUD'li hastalarda HP bakmak yerine daha ucuz ve kolay uygulanan serolojik bir test olan *Cag A* bakıp, pozitif ise eradikasyon tedavisi vermek daha ekonomik ve akılcı olabilir. *Cag A* (+) NUD'li hastalarda eradikasyon tedavisi ile klinik düzelme arasındaki ilişki, ilave bir çalışmayı gerektirmektedir.

Ö Z E T

Helikobakter pilori (HP) dünya nüfusunun yaklaşık yarısının mide mukozasını etkiler. İnfekte nüfusun yalnızca küçük bir grubunda hastalık geliştiğinden, HP'nin hastalık oluşturup oluşturmamasına neden olan bazı özel virulan faktörleri olsa gerektir. Bazı spesifik HP suşlarının sitotoksin üretebilme yeteneği olduğu ilk kez Leunk ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. Öte yandan *Cag A*, HP suşlarının %60'ında bulunan bir virulan faktör olarak saptanmıştır. Dünyada *Cag A* seroprevalansı büyük bölgesel farklılıklar göstermektedir. Biz çalışma süremiz boyunca, elde edilen tıbbi literatürde (Türkçe ve İngilizce) Türkiye'deki *Cag A* seroprevalansı ile ilgili hiçbir çalışma bulamadık.

Bu çalışmanın amacı, HP (+) ülser ve non-ülser dispepsi (NUD) hastalarında *Cag A* seroprevalansını araştırmak ve *Cag A* pozitifliği ile gastrik histopatolojinin korelasyonunu incelemek idi. Çalışmaya 60 hasta alındı. Tüm hastalara gastroskopi yapıldı ve mide antrum, korpus ve fundustan biyopsiler alındı. Biyopsi örnekleri Sydney sistemi sınıflandırması kullanılarak incelendi. HP varlığı CLO-test ve histoloji kullanılarak saptandı. *Cag A* serolojisi, HP (+) olan tüm hastalarda ELISA yöntemi ile çalışıldı. HP (+) olan 46 hastalık grupta 37 hasta *Cag A* (+) idi.

Cag A, HP (+) duodenal ülser hastalarının tamamında ve 33 HP (+) NUD hastasının 25'inde (%75,7) pozitifliği. *Cag A* seropozitifliği oranı, HP statüleri dikkate alınmaksızın, tüm NUD hastalarında %54,3 idi (25/46).

Cag A (+) ve *Cag A* (-) hastaların gastrik mukozal biyopsileri karşılaştırıldığında; *Cag A* (+) grupta yüksek inflamasyon skorları ($p < 0,05$), yüksek aktivite skorları ($p < 0,01$) ve yüksek atrofi skorları ($p < 0,01$) saptandı; fakat iki grup arasında intestinal metaplazi ($p > 0,05$) ve HP yoğunluğu ($p > 0,05$) açısından farklılık gözlenmedi.

Anti *Cag A* antikor pozitifliği, peptik ülser hastalarında NUD hastalarından anlamlı olarak daha yüksek bir oranda idi. Sonuçlarımız *Cag A*'nın önemli bir virulan faktör olduğunu göstermektedir. NUD'li hastaların yaklaşık yarısının *Cag A* (+) serolojiye sahip olduğu ve bu *Cag A* (+) hastalarda inflamasyon daha ciddi ve atrofi daha sık görüldüğü dikkate alındığında, NUD'li hastalarda daha pahalı test araçları kullanarak HP durumunu belirlemek yerine önce *Cag A* serolojisine bakmak ve yalnızca *Cag A* pozitif hastalara HP eradikasyon tedavisi vermek daha kolay ve maliyet-etkinlik oranı da daha yüksek olacak gibi gözükmektedir.

S U M M A R Y

CAG A SEROPOSITIVITY AND ASSOCIATION OF CAG A WITH HISTOLOGY IN *HELICOBACTER PYLORI* POSITIVE PATIENTS WITH PEPTIC ULCER AND NON-ULCER DYSPEPSIA

Helicobacter pylori (HP) affects the gastric mucosa of approximately half of the world's population. Because the disease develops in only a minority of the infected population, HP should have special virulence factors which determine whether it causes disease or not. The cytotoxin producing ability of specific HP strains was first described by Leunk et al. *Cag A*, on the other hand, was determined as a virulent factor which was found in 60% of HP strains. There is a great regional difference in the seroprevalence of *Cag A* in the world. We found no studies in the available medical literature (both in Turkish and English), during the time interval we performed our study, on *Cag A* seroprevalence in Turkey.

The aim of this study was to investigate the seroprevalence of *Cag A* in HP (+) ulcer and non-ulcer dyspepsia (NUD) patients, and to evaluate the correlation of *Cag A* positivity with gastric histopathology sixty patients were included in the study. In all patients, gastroscopy was performed and biopsies were taken from gastric antrum, corpus and fundus. Biopsy specimens were studied using the Sydney system classification. The presence of HP was determined using CLO-test and histology. The serology of *Cag A* was studied using by ELISA in all HP (+) patients. Thirty- seven (80,4%) patients were *Cag A* positive in a group of 46 HP (+) patients.

Cag A was positive in all (12/12) HP (+) duodenal ulcer patients, and in 25 of 33 HP (+) NUD patients (75,7%). *Cag A* seropositivity rate was 54,3% (25/46) in all NUD patients disregarding their HP status. When the gastric mucosal biopsies of *Cag A* (+) and *Cag A* (-) patients were compared, high inflammation scores ($p<0,05$), high activity scores ($p<0,01$) and high atrophy scores ($p<0,01$) were found in *Cag A* (+) group, but no differences were seen in intestinal metaplasia ($p>0,05$) and HP density ($p>0,05$) between the two groups.

Anti *Cag A* antibody positivity was present in a significantly higher percentage of peptic ulcer patients than in NUD patients. Our results showed that *Cag A* is an important virulent factor. Since about half of the patients with NUD have *Cag A* (+) serology, and since inflammation is more serious and atrophy is more frequent in these *Cag A* (+) patients, it seems as if it is more cost-effective and easy, to test *Cag A* serology first, and to give HP eradication therapy only to *Cag A* (+) patients instead of evaluating HP status using more expensive test facilities in NUD patients.

KAYNAKLAR

1. Atherton, J.C., Peek, R.M., Tham, K.T. : Quantitative Culture of Helicobacter Pylori in Gastric Antrum: Association of Bacterial Density with Duodenal Ulcer Status and Infection with *Cag A* Positive Bacterial Strains, and Negative Association with Serum IgG Levels. Am. J. Gastroenterol., 89: 1322, 1994.
2. Barbara, L., Camilleri, M., Valletta, R., Corinaldesi, R., Cream, G.P., Heading, R.C., Johnson, A.G., Malagelada, J.R., Stanghellini, V., Wienbeck, M. : The Definition and Investigation of Dyspepsia. Dig. Dis. Sci., 34: 1272, 1989.
3. Blaser, M.J. : Helicobacter Pylori: Its Role in Disease. Clin. Infect. Dis., 15: 386-393, 1992.
4. Blaser, M.J. : Hypothesis on the Pathogenesis and Natural History of Helicobacter Pylori Induced Inflammation. Gastroenterology, 102: 720-727, 1992.
5. Blaser, M.J. : Role of *Vac A* and the *Cag A* Locus of Helicobacter Pylori in Human Disease. Aliment. Pharmacol. Ther., 10(Suppl 1): 73-77, 1996.
6. Chamberlain, E.G. : Acute Hemorrhagic Gastritis. Gastroenterol. Clin. North. Am., 22: 844, 1993.
7. Ching, C.K., Wong, B.C.Y., Kwok, E., Ong, L., Covacci, A., Lam, S.K. : Prevalence of *Cag-A* Bearing Helicobacter Pylori Strains Detected by the *Anti-Cag A* Assay in Patients with Peptic Ulcer Disease and in Controls. Am. J. Gastroenterol., 91: 949-953, 1996.
8. Cohen, H., Gramisu, M., Fitzgibbons, P. : Campylobacter Pylori: Associations with Antral and Fundic Mucosal Histology and Diagnosis by Serology in Patients with Upper Gastrointestinal Symptoms. Am. J. Gastroenterol., 84: 367, 1989.
9. Correa, P., Yardley, J.H. : Grading and Classification of Chronic Gastritis: One American Response to Sydney System. Gastroenterology, 102: 355, 1992.

10. Covacci, A., Censini, S., Bugnoli, M., Petracca, R., Burroni, D., Macchia, G., Massone, A., Papini, E., Xiang, Z., Figura, N., Rappuoli, R. : Molecular Characterization of the 128-kDa Immunodominant Antigen of *Helicobacter Pylori* Associated with Cytotoxicity and Duodenal Ulcer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 5791-5795, 1993.
11. Cover, T.L., Dooley, C.P., Blaser, M.J. : Characterization of and Human Serologic Response to Proteins in *Helicobacter Pylori* Broth Culture Supernatants with Vacuolizing Cytotoxin Activity. *Infect. Immun.*, 58: 603-610, 1990.
12. Cover, T.L., Blaser, M.J. : Purification and Characterization of the Vacuolating Toxin from *Helicobacter Pylori*. *J. Biol. Chem.*, 267: 10570-10575, 1992.
13. Cover, T.L., Glupczynski, Y., Lage, A.P., Burette, A., Tummuru, M.K.R., Perez-Perez, G.I., Blaser, M.J. : Serologic Detection of Infection with *Cag A(+)* *Helicobacter Pylori* Strains. *J. Clin. Microbiol.*, 33: 1496-1500, 1995.
14. Crabtree, J.E., Wyatt, J.I., Sobala, G.M., Miller, G., Tompkins, D.S., Primrese, J.N., Morgan, A.G. : Systemic and Mucosal Humoral Responses to *Helicobacter Pylori* in Gastric Cancer. *Gut* 34: 1339-1343, 1993.
15. Cullen, D.J.E., Collins, B.J., Christiansen, K.J. : Long Term Risk of Peptic Ulcer Disease in People with *Helicobacter Pylori* Infection. A Community Based Study. *Gut*, 34(Suppl 1): 284, 1993.
16. Cutler, A.F., Havstad, S., Ma, C.K. : Accuracy of Invasive and Noninvasive Tests to Diagnose *Helicobacter Pylori* Infection. *Gastroenterology*, 109: 136-141, 1995.
17. Dixon, M.F., Genta, R.M., Yardley, J.H., Correa, P. : Classification and Grading of Gastritis. *Am. J. Surg. Pathol.*, 20: 1161-1181, 1996.

18. Dooley, C.P., Cohen, H., Fitzgibbons, P.L., Bauer, M., Appleman, M.D., Perez-Perez, G.I., Blaser, M.J. : Prevalance of Helicobacter Pylori Infection and Histologic Gastritis in Asymptomatic Persons. *N. Eng. J. Med.*, 321: 1562-1566, 1989.
19. Drumm, B. : Helicobacter Pylori. *Archives of Disease in Childhood*, 65: 1278-1282, 1990.
20. Drumm, B., Perez-Perez, G.I., Blaster, M.J. : Intrafamilial Clustering of Helicobacter Pylori Infection. *N. Engl. J. Med.*, 322: 359, 1990.
21. Evans, D.J., Evans, D.G., Takemura, T. : Characterization of a Helicobacter Pylori Neutrophil- Activating Protein. *Infect. Immun.*, 63: 2213-2220, 1995.
22. Genta, R.M., Crabtree, J.E., Graham, D.Y. : Poor Correlation Between Serum IgG Titers to *Cag A* and Mucosal Inflammation. *Gut*, 37(Suppl 1): A80(Abstract), 1995.
23. Glass, G.B.J., Pitchumoni, C.S. : Atrophic Gastritis. *Human Pathol.*, 6: 219, 1975.
24. Goodwin, C.S., Blincow, E.D. Warren, J.R. : Evaluation of Cultural Techniques for Isolating Campylobacter Pyloridis from Endoscopic Biopsies of Gastric Mucosa. *J. Clin. Pathol.*, 38: 1127-1131, 1985.
25. Goodwin, C.S. : Duodenal Ulcer, Campylobacter Pylori and the "Leaking-Roof" Concept. *Lancet*, 2: 1467, 1988.
26. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A. : Microbiological Aspects of Helicobacter Pylori. *Microbiol. Infect. Dis.*, 9: 1-13, 1990.
27. Graham, D.Y., Malaty, H.M., Klein, P.D. : Helicobacter Pylori Infection Clusters in Families. *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, 78(Suppl 1):26, 1990.
28. Graham, D.Y., Malaty, H.M., Evans, D.G., Evans, D.S., Klein, P.D., Adam, E. : Epidemiology of Helicobacter Pylori in Asymptomatic Population in the United States. *Gastroenterology*, 100: 1495-1501, 1991.

29. Holcome, C., Omotara, B.A., Eldrige, J., Jones, D.M. : *Helicobacter Pylori*, the Most Common Bacterial Infection in Africa. *Ame. J. Gastroenterol.*, 1: 28-31, 1992.
30. Holloway, Y., Schiphuis, J., Weites, L., Snijder, J.A.M. : Luxuriant Growth of *Helicobacter Pylori* and *Campylobacter* Species in Candle Jars after Pimary Isolation. *Eur. J. Micro.*, 13: 831-832, 1994.
31. Kansau, I., Labigne, A. : Heat Shock Proteins of *Helicobacter Pylori*. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 10(Suppl 1): 51-56, 1996.
32. Karabiber, N. : Helikobakter Pileri Enfeksiyonu Tanı Yöntemleri. *Klinik Mikrobiyoloji*, 5(19): 15-16, 1992.
33. Lage, A.P., Godfreid, E., Fauconnier, A. : Frequency of *Cag A* in *Helicobacter Pylori* Strains Isolated from Belgian and Moroccan Patients. *Gut* 37(Suppl 1): A69(Abstract), 1995.
34. Lambert, J.R. : The Role of *Helicobacter Pylori* in Non-Ulcer Dyspepsia. *Gastroenterol. Clin. of North America*, 22: 141, 1993.
35. Lee, A., Fox, J.G., Otto, G. : Transmission of *Helicobacter Pylori* Spp: A Challenge to The Dogma of Faecal- Oral Spread. *Epidemiol. Infect.*, 107: 99, 1991.
36. Lee, A., Fox, J., Hazell, S. : Pathogenicity of *Helicobacter Pylori*: A Perspective. *Infect. Immun.*, 61: 1610-1611, 1993.
37. Leunk, R.D., Johnson, P.T., David, B.C. : Cytotoxic Activity in Broth- Culture Filtrates of *Campylobacter Pylori*. *J. Med. Microbiol.*, 26: 93-99, 1988.
38. Levi, S., Beardshall, K., Haddad, G. : *Campylobacter Pylori* and Duodenal Ulcers: The Gastrin-Link. *Lancet*, 1: 1167, 1989.
39. Maeda, S., Ogura, K., Yoshida, H., Kanai, F., Ikenoue, T., Kato, N., Shiratori, Y., Omata, M. : Major Virulence Factors, *Vac A* and *Cag A*, are Commonly Positive in *Helicobacter Pylori* Isolates in Japan. *Gut* 42(3): 338-343, 1998.

40. Marshall, B.J., Plankey, M.W., Hoffman, S.R. : A 20 Minute Breath Test for Helicobacter Pylori. Am. J. Gastroenterol., 86: 438-445, 1991.
41. Marshall, B.J. : Helicobacter Pylori. Am. J. Gastroent., 89: S116-S128, 1994.
42. Marshall, B.J., Barry, J. : Helicobacter Pylori and Peptic Ulcer. JAMA, 274: 1064-1066, 1995.
43. Megraud, F. : Microbiological Characteristics of Campylobacter Pylori. Euro. J. Gastroenterology-Hepatology., 1: 5-12, 1989.
44. Mendall, M.A., Goggin, P.M., Molineaux, N. : Childhood Living Condition and Helicobacter Pylori Seropositivity in Adult Life. Lancet, 339: 896, 1992.
45. Mitchell, H.M., Hazell, S.L., Li, Y.Y., Hu, P.J. : Serological Response to Specific Helicobacter Pylori Antigens: Antibody Against *Cag A* Antigen is not Predictive of Gastric Cancer in a Developing Country. Am. J. Gastroenterol. 91: 1785-1788, 1996.
46. Moran, A.P. : The Role of Lipopolisaccaride in Helicobacter Pylori Pathogenesis. Aliment. Pharmacol. Ther. 10(Suppl 1): 39-50, 1996.
47. Morris, A., Ali, M.R., Brown, P. : Campylobacter Pylori Infection in Biopsy Specimens of Gastric Antrum: Laboratory Diagnosis and Estimation of Sampling Error. J.Clin. Pathol., 42: 727-732, 1989.
48. Parsonnet, J., Blaser, M.J., Perez-Perez, G.I. : Symptoms and Risk Factor of Helicobacter Pylori Infection in Cohort of Epidemiologists. Gastroenterology, 102: 41, 1992.
49. Perez-Perez, G.I., Witkin, S.S., Decher, M.D. : Seroprevalence of Helicobacter Pylori Infection in Couples. J. Clin. Microbiol., 29: 643, 1991.
50. Peterson, W.L. : Helicobacter Pylori and Peptic Ulcer Disease. The New England Journal of Medicine, 124(15): 1013-1018, 1991.

51. Peterson, W.L., Graham, D.G. : *Helicobacter Pylori*. Gastrointestinal and Liver Disease, 6th Edition Vol. 1, (Eds) Sleisenger, M.H., Feldman, M., Scharschmidt, B.F. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders Company 1998, 606-608.
52. Pinkard, K.J., Harrison, B., Capstick, J.A. : Detection of *Campylobacter Pyloridis* in Gastric Mucosa by Phase Contrast Microscopy. *J. Clin. Pathol.*, 39: 112-113, 1986.
53. Pireed, B.J.J., Hali, M. : *Campylobacter Like Organisms* in Duodenal and Antral Endoscopic Biopsies: Relationship to Inflammation. *Gut*, 27: 1132-1137, 1986.
54. Polish, L.B., Douglas, J.M., Davidson, A.J. : Characterization of Risk Factors for *Helicobacter Pylori* Infection Among Men Attending A Sexually Transmittend Disease Clinic: Lack of Evidence for Sexxual Transmission. *J. Clin. Microbiol.*, 29: 2139, 1991.
55. Price, A.B. : The Sydney System: Histological Division. *J. Gastroenterol.- Hepatol.*, 6: 209, 1991.
56. Sandıkçı, M.U., Doran, F., Köksal, F. : *Helicobacter Pylori* Prevalance in a Routine Upper Gastrointestinal Endoscopy Population. *Brit. J. Clin. Prac.*, 47: 187-189, 1993.
57. Sharma, S.A., Tummuru, M.K.R., Miller, G.G., Blaser, M.J. : Interleukin-8 Response of Gastric Epithelial Cell Lines to *Helicobacter Pylori* Stimulation in Vitro. *Infect Immun.*, 63: 1681-1687, 1995.
58. Sozzi, M., Valentini, M., Figura, N., De Paoli, P., Tedeschi, R.M., Gloghini, A., Serraino, D., Poletti, M., Carbone, A. : Atrophic Gastritis and Intestinal Metaplasia in *Helicobacter Pylori* Infection: The Role of *Cag A* Status. *Am. J. Gastroenterol.* 93: 375-379, 1998.
59. Strickland, R.G., Mackay, I.R. : A Reappraisal of the Nature and Significance of Chronic Atrophic Gastritis. *Am. J. Dig. Dis.*, 18: 426, 1973.

60. Telford, J.L., Ghiara, P., Dell'Orco, M. : Gene Structure of the Helicobacter Pylori Cytotoxin and Evidence of Its Key Role in Gastric Disease. J. Exp. Med., 179: 1653-1658, 1994.
61. Thomas, J.E., Gibson, G.R., Darboe, M.K., Dale, A., Weaver, L.T. : Isolation of Helicobacter Pylori from Human Faeces. Lancet, 340: 1194-1195, 1992.
62. Tummuru, M.K.R., Cover, T.L., Blaser, M.J. : Mutation of the Cytotoxin- Associated *Cag A* Gene does not Affect the Vacuolating Cytotoxin Activity of Helicobacter Pylori. Infect. Immun., 62: 2609-2613, 1994.
63. Tytgat, G.N.J., Rauws, E.A.J., Koster, E.H. : Campylobacter Pylori Diagnosis and Treatment. J. Clin. Gastroenterology, 11(Suppl 1): 49-53, 1989.
64. Tytgat, G.N.J., Lee, A., Graham, D.Y. : The Role of Infectious Agents in Peptic Ulcer Disease. Gastroenterol. Internat., 6: 76, 1993.
65. Van Zweet, A.A., Thijs, J.C., Kooistrosmid, A.M., Schirm, J., Snijder, J.A. : Sensitivity of Culture Compared with That of Polymerase Chain Reaction for Detection of Helicobacter Pylori from Antral Biopsy Samples. J. Clin. Microbiol., 31: 1918-1920, 1993.
66. Whitehead, R., Truelove, S.C., Gear, M.W.L. : The Histological Diagnosis of Chronic Gastritis in Fiberoptic Gastroscopy Biopsy Specimens. J. Clin. Pathol., 25: 1, 1972.
67. Xiang, Z., Bugnoli, M., Ponzetto, A. : Detection in an Enzyme Immunoassay of an Immune Response to a Recombinant Fragment of the 128 kilodalton protein (*Cag A*) of Helicobacter Pylori. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 12: 739-745, 1993.