

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI BAŐKANLIĐI

HELİCOBACTER PYLORİNİN BİRİNCİ BASAMAK TEDAVİSİNDE
KULLANILAN KLARİTROMİSİN DİRENCİNİN MELTING CURVE
ANALİZİ İLE SAPTANMASI

Uzm. Dr. Kemalettin YILMAZ
Tbp.Kd.Bnb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Askeri Tıp Fakültesi'nin Gastroenteroloji Uzmanlık Dalı
İçin Öngördüğü
YANDAL UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

ANKARA

2008

T.C.
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI BAŐKANLIĐI

HELİCOBACTER PYLORİNİN BİRİNCİ BASAMAK TEDAVİSİNDE
KULLANILAN KLARİTROMİSİN DİRENCİNİN MELTING CURVE
ANALİZİ İLE SAPTANMASI

Uzm. Dr. Kemalettin YILMAZ
Tbp.Kd.Bnb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Askeri Tıp Fakültesi'nin Gastroenteroloji Uzmanlık Dalı
İçin Öngördüğü
YANDAL UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Ahmet UYGUN
Doç.Tbp.Kd.Alb.

ANKARA

2008

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığına:

“HELİCOBACTER PYLORİNİN BİRİNCİ BASAMAK TEDAVİSİNDE KULLANILAN KLARİTROMİSİN DİRENCİNİN MELTING CURVE ANALİZİ İLE SAPTANMASI” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Gastroenteroloji Bilim Dalı’nda Yandal Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: Doç. Tbp.Kd.Alb. Ahmet UYGUN

GATA Gastroenteroloji BD. Öğ.Ü.

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb.Necmettin KARAEREN

GATA Gastroenteroloji BD. Başkanı

Üye : Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb.Orhan KOZAK

GATA Genel Cerrahi AD. Öğ.Ü.

Üye : Doç. Tbp.Kd.Alb.Sait BAĞCI

GATA Gastroenteroloji BD. Öğ.Ü.

Üye : Doç. Tbp.Kd.Alb.Mustafa GÜLŞEN

GATA Gastroenteroloji BD. Öğ.Ü.

Üye : Doç. Tbp.Kd.Alb. Ahmet UYGUN

GATA Gastroenteroloji BD. Öğ.Ü.

ONAY:

Kemalettin YILMAZ ’ın 28/07/2008 tarihinde savunduğı bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görölmüş ve kabul edilmiştir.

M.Zeki Bayraktar

Prof. Tbp. Tümgeneral

Gülhane Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı

Eğitim Hastanesi Baştabibi

TEŞEKKÜR

Bu tez konusu Doç. Tbp. Kd. Alb. Ahmet UYGUN tarafından Şubat 2006 tarihinde verilmiş olup çalışma Mart 2006-Ocak 2008 tarihleri arasında yapılmıştır.

Helikobakter pylori (H. pylori) enfeksiyonu dünyada en sık görülen kronik bakteriyel bir enfeksiyondur. Batı ülkelerinde enfeksiyonun prevalansı % 25–50 iken Türkiye’de %70- 80 arasındadır. H. pyloride tedavi yetersizliğinin en büyük sebebi, kullanılan antibiyotiklere karşı bakteriyel dirençtir. H. pylorinin birinci basamak tedavisinde klaritromisin bazlı tedavi önerilmektedir. Ancak klaritromisin direnci nedeni ile H. pylori tedavisi başarısızlıkla sonuçlanmaktadır.

Bu çalışmada; daha önce hiç klaritromisin kullanmamış, dispeptik yakınması nedeni ile gastroenteroloji polikliniğine müracaat eden hastalarda tedavi öncesi primer klaritromisin direncini ölçebileceğimiz hızlı, kolay ve ucuz bir yöntem olarak PCR ile Melting Curve Analiz metodunun laboratuvar ve klinik işbirliği ile kullanılabilir olup olmadığını analiz etmeyi amaçladık.

Tezimin hazırlanmasında tez danışmanım Doç.Tbp.Kd.Alb. Ahmet UYGUN başta olmak üzere; eğitimim süresince yetişmeme büyük katkıları olan değerli hocalarım Gastroenteroloji BD Bşk. Prof.Tbp.Kd.Alb. Necmettin KARAEREN’ e, Doç.Tbp.Kd.Alb.Sait BAĞCI’ya, Doç.Tbp.Kd.Alb.Mustafa GÜLŞEN’e, Doç.Tbp. Kd.Alb. Ahmet ERDİL’ e, Doç.Tbp.Kd.Alb. Ahmet TÜZÜN’ e, Doç.Tbp.Yb. Zeki YEŞİLOVA’ ya, çalışmalarına yardımcı olan arkadaşlarım Yrd. Doç. Tbp. Yb. Cemal Nuri ERÇİN’e, Yrd.Doç.Tbp.Kd.Bnb. Güldem KİLCİLER’e, Uzm.Tbp.Yb. Zülfikar POLAT’ a ve tezin yapılış aşamasında emeğini ve katkılarını esirgemeyen Prof.Tbp.Kd.Alb. Ayhan KUBAR ve Viroloji Kliniği çalışanlarına, istatistiklerin yapılmasında yardımcı olan Doç.Tbp. Bnb. Selim KILIÇ’ a ve uzmanlık öğrencisi arkadaşlarım Tbp.Kd.Bnb. Murat KANTARCIOĞLU’ na ve Tbp. Bnb. Muammer KARA’ ya ve emekli hocalarımız Prof. Dr. Kemal DAĞALP ve Doç. Dr. Yüksel ATEŞ’e ve tüm ihtisas süresince yardımlarını ve emeğini esirgemeyen kliniğimizin hemşire, teknisyen ve bütün personeline ve eşim Demet’e ve tezimin yazılmasında yardımcı olan oğlum Ahmet Emre’ye sonsuz teşekkürler ederim.

Temmuz 2008

Kemalettin YILMAZ

Tbp. Kd. Bnb.

ÖZET

Helicobacter Pylorinin Birinci Basamak Tedavisinde Kullanılan Klaritromisin Direncinin Melting Curve Analizi İle Saptanması

Helikobakter pylori (H. pylori) enfeksiyonu dünyada en sık görülen kronik bakteriyel bir enfeksiyondur. H. pyloride tedavi yetersizliğinin en büyük sebebi, kullanılan antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç ve ilaç alımına uyumsuzluktur. Klaritromisin direnci 23S rRNA noktasındaki mutasyondan kaynaklanır ve makrolidlerin ribozoma bağlanması engellenir. A2142G, A2143G mutasyonları en sık görülürken A2142C daha az görülür. Birinci basamak tedavide etkinliği kanıtlanmış tedavi protokollerinin kullanılması önemlidir. Eğer birinci basamak tedavisinde başarısızlık gözlenirse 2' ci ve 3' cü basamak tedavilerde başarı oranı daha da düşük olacaktır. Uygun ve etkili olmayan tedavi rejimleri H. pylori'nin direnç kazanmasına yol açarlar. H. pylorinin birinci basamak tedavisinde klaritromisin bazlı tedavi önerilmektedir. Klaritromisin rezistansının yüksek olduğu ülkelerde H. pyloriye karşı yapılacak antibiyotik duyarlılık ve direnç testleri önemlidir.

Bu çalışmada; daha önce hiç klaritromisin kullanmamış, dispeptik yakınması olan hastaları incelemeye aldık. Antibiyoterapi öncesi primer klaritromisin direncini ölçmek PCR ile Melting Curve Analiz metodunu analiz etmeyi amaçladık. Çalışmaya 46 hasta alındı. Histopatolojik inceleme ve hızlı üreaz testi ile H. pylori pozitif çıkan hastalara lansoprazol 30 mgr 2x1, amoksisilin 1000 mgr 2x1, klaritromisin 500 mgr 2x1, 14 gün verildi. 8 hafta sonra kontrol endoskopi yapıldı ve biyopsiler alındı. Çalışmaya 14 erkek, 32 kadın olmak üzere 46 hasta alındı. Ortalama yaşları 37,05 ±11,57 idi. Tedavi sonrası 46 hastanın histopatoloji ile 18'inde (%39,1), PCR ile 26'sında (% 56,5) H. pylori pozitif bulundu. PCR ile Melting Curve Analizi yöntemi ile tedavi öncesi 4 biyopsi örneğinin primer direnç taşıdığını ve tedavi sonrası ise 4 biyopsi örneğinin sekonder dirence sahip olduğunu tespit ettik. DNA dizi analizi ile de tedavi öncesi grupta 6 hasta A2142-2143G(T) ve 5 hasta T2182C primer direncine sahipti. İki hasta her iki direnci birlikte taşıyordu. Tedavi sonrası grupta ise 4 hastada A2142-2143G ve 2 hastada T2182C mutasyonlarını saptadık. Her iki metod ile ortak olarak, tek bir hastada mutasyon tespit edildi.

Sonuç olarak, tedavi öncesi klaritromisin rezistansını belirleyebilmek için tek başına PCR temelli Melting Curve Analizinin yeterli gelmeyeceğini gösterdik. Bu nedenle řu anda klaritromisin direncinin moleküler yöntemlerle belirlenmesinde; DNA dizi analizi gibi bir yöntemle kombinasyona ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler : helikobakter pylori, klaritromisin rezistansı, melting curve analiz

Yazar Adı : Tbp.Kd.Bnb. Kemalettin Yılmaz

Danışman : Do.Tbp.Kd.Alb. Ahmet UYGUN

SUMMARY

Determining Clarithromycin Resistance in H.pylori in the First-line Therapy Using Melting Curve Analysis

Helicobacter pylori(H. pylori) infection is the most common chronic bacterial infection in the world. Bacterial resistance against antibiotics and incompletion to therapy are major causes of failure of eradication. Resistance of H. pylori to clarithromycin is due to point mutations in 23S rRNA gene and these mutations cause blockage of macrolide-ribosome binding. The predominant mutations are A2142G and A2143G as well as a small number of A2142C mutations. First-line therapy should include the regimens that are proved to be effective. If treatment failure is seen in the first-line therapy, achievement rates fall in the second and third line therapies. Inappropriate and ineffective regimens lead to resistance of H. pylori to antibiotics. Clarithromycin- based therapy is recommended in the first-line therapy. In the countries with high prevalence of clarithromycin resistance, antibiotic susceptibility and resistance tests against H. pylori are important.

In this report the patients admitted to gastroenterology polyclinic who haven't treated with clarithromycin are included. We aimed to determine melting curve analysis method with PCR whether useful in measuring primary clarithromycin resistance before antibiotherapy. 46 patients were included in the study. H. pylori positive patients with histopathologic examination and rapid urease test are treated with lansoprasol 30mg 2x1, amoxicilline 1g 2x1 and clarithromycin 500mg 2x1 for 14 days. Patients were undergone control endoscopy and removed tissue samples 8 weeks after the initial endoscopy. 14 male and 32 female patients were included. Mean age was 37.05±11.57. 18(%39.1) of 46 patients were H. pylori positive with histopathologic examination and 26(%56.5) were H. pylori positive with PCR after treatment.

4 tissue samples were found to have primary resistance before treatment and 4 samples had secondary resistance after treatment with Melting curve analysis with PCR. 6 patients had A2142-2143G(T) and 5 patients had T2182C primary mutations in pre-treatment group with DNA sequense analysis.

2 of these had mutations of both. 4 patients had A2142-2143G and 2 patients had T2182C mutations in post-treatment group. Only one common resistance was determined with two methods. Our results suggest that PCR based melting curve analysis may fail in determining clarithromycin resistance before therapy. Hence, combination with another method like DNA sequence analysis is needed for detecting clarithromycin resistance using molecular methods.

Keywords : helicobacter pylori, clarithromycin resistance, melting curve analysis

Author : Doc.Maj. Kemalettin Yılmaz

Counsellor: Ass. Prof. Col. Ahmet UYGUN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xii
TABLolar	xiii
I- GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II- GENEL BİLGİLER.....	3
A. HELİKOBakter PYLORİ.....	3
B. EPİDEMİYOLOJİ.....	3
C. BULAŞMA YOLLARI.....	4
D. BAKTERİNİN ÖZELLİKLERİ.....	4
E. TEDAVİ-ERADİKASYON İLİŞKİSİ.....	5
F. H. PYLORİ ENFEKSİYONUNUN TANISI.....	12
1- İNVAZİV TESTLER.....	12
2- NON-İNVAZİV TESTLER.....	14
G. TEDAVİ SEÇENEKLERİ.....	15
H. ANTİMİKROBİYAL REZİSTANS.....	19
III- HASTALAR VE YÖNTEM.....	25
IV- MATERYAL VE METOD.....	27
A-HİSTOPATOLOJİK İNCELEME.....	27
B-DNA ELDE EDİLMESİ.....	27
C-DNA DİZİ ANALİZ ÇALIŞMALARI.....	29
V- BULGULAR	30
VI- TARTIŞMA.....	37
VII- ÖZET.....	44
VIII-İNGİLİZCE ÖZET.....	45
IX- KAYNAKLAR.....	44

KISALTMALAR

H. pylori	: Helikobakter pylori
FİSH	: Fluorescence In Situ Hybridization
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
MALT	: Mucosa-Associated Lymphoid Tissue
EHPSG	: Avrupa Helicobakter Pylori Çalışma Grubu
DÜ	: Duodenal Ülser
GÜ	: Gastrik Ülser
GÖRH	: Gastroözofagial Reflü Hastalığı
NSAİİ	: Non-Steroid Anti İnflamatuvar İlaç
İKH	: İskemik Kalp Hastalığı
KOAH	: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
İBH	: İnflamatuvar Barsak Hastalığı
GİS	: Gastro İntestinal Sistem
İTP	: İdiopatik Trombositopenik Purpura
DEA	: Demir Eksikliği Anemisi
C	: Karbon
CO ₂	: Karbondioksit
PPI	: Proton Pompa İnhibitörü
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
RNA	: Ribonükleik Asit
rRNA	: ribozomal Ribonükleik Asit
GATA	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
HE	: Hematoksilen Eozin

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil	Sayfa
1. Çeşitli ülkelerde 100'den fazla hastayı içeren üçlü tedavi sonucu elde edilen kür oranları	18
2. Pozitif ve negatif örneklerle ait TaqMAN real time PCR pikleri	32
3a; H.Pylori pozitif ve direnç taşımayan örneklerle ait 86,2–86,9°C aralığında bulunan melting curve grafiği	33
3b; H.Pylori pozitif ve direnç taşıyan-taşımayan örneklerle ait 86,5 ve 87,1°C olan melting curve grafiği.	33
4a; <i>Tedavi öncesi 2182. pozisyonundaki T yerine tedavi sonrası nokta mutasyon</i>	35
4b; <i>Tedavi öncesi 2142. pozisyonundaki A yerine tedavi sonrası nokta mutasyon ile G nükleotidi geçmiştir.</i>	35

TABLO DİZİNİ

Tablo	Sayfa
I - Eradikasyon oranlarına göre değerlendirme	5
II- Maastrich3–2005 Konsensus raporuna göre, H. pylori eradikasyon endikasyonları	7
III - Hastaların özellikleri	25
IV- Hastalara ait bulgular	30
V- Tedavi öncesi PCR ile mutant bulunan H. Pylori ile Tedavi sonrası H. Pylori karşılaştırma	31
VI- Tedavi Öncesi Klaritromisin Rezistan H. Pylori Suşları Bulunduran Hastalar	34
VII- Tedavi Sonrası Klaritromisin Rezistan H. Pylor Suşları Bulunduran Hastalar	34
VIII- Tedavi öncesi sekans ile mutant H. Pylori (+) ile tanı arasındaki ilişki	36
IX- Tedavi sonrası sekans ile mutant H. Pylori (+) ile tanı arasındaki ilişki	36

I-GİRİŞ VE AMAÇ:

Helikobakter pylori (H. pylori) enfeksiyonu dünyada en sık görülen kronik bakteriyel bir enfeksiyondur (1) . Dünya nüfusunun %60'ının bu bakteri ile kontamine olduğu tahmin edilmektedir. Sıklığı ve sebep olduğu hastalıklar açısından H. pylori ciddi bir halk sağlığı sorunudur (1,2) .

H. pylori çubuk şeklinde, spiral, gram negatif, mikroaerofilik bir mikroorganizmadır. Kronik aktif gastrit, peptik ülser hastalığı, mide kanseri ve mide “mucosa-associated lymphoid tissue” (MALT) lenfomanın etiolojisinden sorumlu olduğu bilinmektedir (3).

Batı ülkelerinde enfeksiyonun prevalansı % 25–50 arasında değişmekte olup giderek düşmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde toplumun büyük kısmı H. pylori ile enfektir. Türkiye’de ise %70- 80 arasındadır (4,50).

H. pyloride tedavi yetersizliğinin en büyük sebebi, kullanılan antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç ve ilaç alımına uyumsuzluktur. H.pyloriye karşı klaritromisin rezistansı 23S rRNA noktasındaki mutasyondan kaynaklanır ve makrolidlerin ribozoma bağlanması engellenir. Nokta mutasyonları A2142G, A2143G ve A2144G pozisyonundaki adeninin guanine geçişinde veya A2142C ve A2143C pozisyonundaki adeninin citozine dönüşümünde olur. A2142G, A2143G mutasyonları en sık görülürken A2142C daha az görülür. Diğer nokta mutasyonları A2115G, G2141A ve T2717 daha az görülür (61) .

Birinci basamak tedavide etkinliği kanıtlanmış tedavi protokollerinin kullanılması önemlidir. Çünkü birinci basamak tedavisinde başarısızlık gözlenirse 2’ ci ve 3’ cü basamak tedavilerde başarı oranı daha da düşük olacaktır. Uygun ve etkili olmayan tedavi rejimleri H. pylori’nin direnç kazanmasına, sonuçta toplumda dirençli H. pylori suşlarının yayılmasına yol açarlar.

H. pylorinin birinci basamak tedavisinde klaritromisin bazlı tedavi önerilmektedir. Ancak klaritromisin direnci; hastanın daha önce başka hastalıklar nedeni ile bu ilacı kullanması, tedaviye uyumsuzluk gibi nedenlerle arttığı için H. pylori tedavisi başarısızlıkla sonuçlanmaktadır.

Klaritromisin rezistansının yüksek olduğu ülkelerde H. pyloriye karşı yapılacak antibiyotik duyarlılık testleri önem taşımaktadır.

H. pylorinin klaritromisine direncini tespit etmek için farklı yöntemler vardır.

Histopatoloji; H. pylori enfeksiyonu tanısı için sensitif, hızlı ve kolay uygulanabilen bir yöntemdir. Ancak tespit edilen patojenin rezistansı hakkında bilgi vermemektedir (3).

H. pylori kültürü; antimikrobiyal duyarlılığını saptamak için kullanılabilir, ancak uygulama zorluklarından dolayı rutin olarak laboratuvarlarda kullanılabilen bir yöntem değildir (76,77).

H. pylori'yi tespit yöntemlerinden birisi olan Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) yöntemi ise; taşıma şartlarından etkilenmeyen, mikroorganizmanın canlılığına bağlı olmayan daha sensitif olan bir yöntemdir (84,85).

Bu çalışmada; daha önce hiç klaritromisin kullanmamış, dispeptik yakınması nedeni ile gastroenteroloji polikliniğine müracaat eden hastalarda tedavi öncesi primer klaritromisin direncini ölçebileceğimiz hızlı, kolay ve ucuz bir yöntem olarak PCR ile Melting Curve Analiz metodunun laboratuvar ve klinik işbirliği ile kullanılabilir olup olmadığını analiz etmeyi amaçladık.

II- GENEL BİLGİLER

A. HELİKOBAKTER PYLORİ

H. pylori'nin ilk olarak 20 yıl önce kültürünün yapılmasından bu yana üst gastroduodenal hastalıkların teşhis ve tedavisinde ciddi değişiklikler olmuştur. Etkili antimikrobiyal tedavisi olmasına rağmen hâlâ ideal bir tedavisi mevcut değildir. Tedavi endikasyonları hakkındaki tartışmalar devam etmektedir (5).

H. pylori enfeksiyonu, bugün gastritin en sık nedeni olarak kabul edilmektedir. Dünya nüfusunun en az % 60'dan fazlasının H. pylori ile enfekte olduğu düşünülürse, bu bakterinin dünyadaki en yaygın enfeksiyon ajanı olduğu kabul edilir (1).

H. pylori enfeksiyonunun klinik sonucu, çevresel faktörler, konakçı ve bakterinin virulans faktörleri arasındaki komplike etkileşimlere bağlı olarak ortaya çıkar. H. pylori prevalansının gelişmekte olan ülkelerde %80'e kadar çıkmasına karşın, gelişmiş ülkelerde % 20–50 civarında oluşu bu enfeksiyonun yayılımında sosyoekonomik faktörlerin önemini gösterir. Enfeksiyon genellikle çocukluk döneminde oral yolla kazanılır. Spesifik tedavi yapılmadığı takdirde sürüp gider ve kusmuk, tükürük ve esas olarak feçes ile atılır. Gelişmekte olan ülkelerde sudan geçişin, önemli bir yol olduğu düşünülmektedir (6,7).

B.EPIDEMİYOLOJİ

Dünya nüfusunun %60'ını enfekte eden H. pylori, dünyada en sık rastlanan kronik bakteriyel enfeksiyondur. H. pylori, yaşam boyu süren antrum ağırlıklı kronik gastrite neden olurken, bu kronik süreçte bir kısım olgularda, peptik ülser hastalığı, mide kanseri ve mide MALT lenfoması gelişmektedir (3).

Bu enfeksiyonun spontan eradikasyonu mümkün değildir. H. pylori uygun eradikasyon tedavisi yapıncaya kadar yaşamını devam ettirir.

H. pylori, çocukluk çağında kazanılan bir enfeksiyondur. Gelişmekte olan ülkelerde çocuklar, bu bakteriyi 2–8 yaşında almaktadır (8). Bu ülkelerde 10 yaş civarındaki çocukların %75'i enfeksiyonu kazanmış durumdadır. Çocukluk çağında, enfeksiyon eradike edilse bile reenfeksiyon sorun

olmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde, yetişkinlerin %80'den fazlası H. pylori ile enfektir (9).

Günümüzde yüksek sosyoekonomik düzey ve daha iyi sağlık koşulları enfeksiyonun prevalansını düşürmektedir. Gelişmiş ülkelerde, H. pylori'nin görülme sıklığı çocukluk çağında % 0–5 arasında iken, yetişkinlerde %20–60 olarak verilmektedir. Gelişmiş ülkelerde, erişkin popülasyonda, özellikle ileri yaşlarda H. pylori prevalansının yüksek olması, çocukluk döneminde kazanılan H. pylori'ye bağlanmaktadır. Bugün gelişmiş ülkelerde, özellikle İkinci Dünya Savaşından sonra gelen sosyal refah, sanitasyon ve alt yapı sorunlarının çözüme kavuşturulması ile sağlanan hijyenik yaşam, H. pylori ile enfekte olma olasılığını süratle düşürmüştür. Gelişmiş ülkelerde, H. pylori görülme sıklığı halen yüksektir (10).

Yurdumuzda çocukluk çağında H. pylori, önemli bir sorun olarak devam etmektedir. 3–12 yaş arası 327 çocuğu kapsayan çalışmada 162 (% 49,5) çocuğun H. pylori ile enfekte olduğu saptanmıştır. Prevalansın yaşla birlikte arttığı görülmüştür. 4 yaş altında %18,2, 4–6 yaş arasında %41, 6–8 yaş arasında % 48,6, 8–10 yaş arasında %50 ve 11–12 yaş arasında %63 bulunmuştur (11).

Ülkemizde yakın geçmişte yapılan prevalans çalışmasında, 20–29 yaş grubu kan donörlerinde H. pylori prevalansı, %85,9 bulunmuştur (12,13).

C. BULAŞMA YOLLARI

H. pylori'nin doğal kaynağı bugün için bilinmemektedir. İnsan dışı bir rezervuar gösterilememiştir. Bazı doğal ve hayvan kaynakları bildirilmişse de, bu bilgiler doğrulanmamıştır. Aile içi bulaşma, özellikle çocukluk yaşlarında önemlidir. Temel bulaşma yolu fekal-oral olmakla birlikte, oral-oral ve gastro-oral yolların da rolü olduğu kabul edilmektedir (14,15).

D.BAKTERİNİN ÖZELLİKLERİ

H. pylori; gram negatif, çubuk şeklinde spiral bir bakteridir ve mikraerofilik ortamda yavaş olarak ürer. Boyutları 0,5–3 mikrometre, ünipolar 3–6 arasında değişen kamçısı vardır. Kamçıları ile mide suyu ve mukus tabakası içinde rahatça hareket edebilir. Aside karşı oldukça

duyarlıdır. Ancak nötral pH değerlerinde optimum üreme gösterir. Bu nedenle lokal asit üretiminin az olduğu antrumunu öncelikli olarak kolonize eder.

H. pylori; insan midesinde, mide yüzey epiteline temas halinde mukus tabakası içinde yaşar. İnvaziv bir bakteri olmadığından epitel katını geçemez. Mide dışında sadece gastrik metaplazi ya da ektopik mide mukozası alanlarında yaşamını devam ettirebilir. Yalnız gastrik tip epitelin salgıladığı mukusa afinitesi vardır (16).

Enteropatojenik Echerichia Coli'de olduğu gibi, H. pylori de mikroskobik yapışma ya da adezyon çıkıntıları oluşturarak, mide epiteli ile ilişki sağlar. Salgılamış olduğu aşırı üreaz ile üreyi parçalar, ortaya çıkan bikarbonat ve amonyum ortamı bakterinin yaşaması için uygun hale getirir (17,18).

E. TEDAVİ-ERADİKASYON İLİŞKİSİ

H. pylori enfeksiyonunun tedavi rehberi, ilk olarak Amerikan College of Gastroenterolojinin 1998 baskısında yayınlanmıştır. Geçen zaman içerisinde tedaviye yönelik önemli miktarda bilgi birikimi olmuştur.

H. pylori enfeksiyonu için ideal tedavi, sürekli olarak; $\geq$ %95 gibi yüksek şifa oranı olan ve hastalar tarafından iyi tolere edilen bir tedavidir. Ancak henüz böyle bir tedavi yoktur. H. pylori eradikasyonunda kullanılan tedavi ile en az % 80–85 olguda eradikasyon sağlanmalıdır. Bu kabul edilebilen bir orandır. Arzu edilen eradikasyon oranı ise % 90 ve üstü olmalıdır (19, 20). Eradikasyon oranlarına göre başarı durumunu Tablo-I' deki gibi gösterebiliriz (16).

Tablo I- Eradikasyon oranlarına göre değerlendirme

<u>Grade</u>	<u>Intention-to-treat cure oranı (%)</u>	<u>Sonuç</u>
A	≥ 95	Mükemmel
B	90–94	İyi
C	85–89	Kabul edilebilir
D	81–84	Zayıf
F	≤ 80	Kabul edilemez

Bu nedenle birinci basamakta etkinliği kanıtlanmış tedavi protokollerinin kullanılması önemlidir. Çünkü birinci basamak tedavisinde başarısızlık gözlenirse 2' ci ve 3' cü basamak tedavilerde başarı oranı daha da düşük olacaktır. Uygun ve etkili olmayan tedavi rejimleri H. pylori'nin direnç kazanmasına, sonuçta toplumda dirençli H. pylori suşlarının yayılmasına yol açarlar.

H. pylori enfeksiyonunun tedavisinde ana problem, ilaçlara uyumun kötü olması ve H. pylori'ye karşı direnç gelişmesidir. H. pylori enfeksiyonunun tedavisi için ideal bir ilaca maalesef bugün için sahip değiliz. Fakat H. pylori'ye karşı elimizde etkili birçok ilaç mevcuttur. Bu ilaçlarla iyi bir kombinasyon yapıp ve uygun süre kullanılırsa % 90'ın üzerinde bir başarıyla H. pylori' yi eradike etmek mümkün olmaktadır (21).

Ancak maalesef birinci basamakta Türkiye'de %90 üstünde başarılı eradikasyon sağlayan protokol yoktur.

H. pylori için ideal tedavide aranan özellikler

1. Ucuz olmalı,
2. %90-95'in üzerinde eradikasyon sağlamalı,
3. Kullanımı kolay olmalı,
4. Kullanan kişide rahatsızlık oluşturmamalı ve ciddi yan etkisi olmamalıdır.

H. pylori'ye karşı etkili bir ilacın sahip olması gereken özellikler şunlardır:

1. İn vitro H. pylori'ye karşı etkili olmalı,
2. İn vitro yavaş çoğalan-büyüyen coccoid formdaki H. pylori'ye karşı etkili olmalı,
3. Edinilmiş (sekonder) direnç yol açmamalı,
4. Minimal lokal ve sistemik yan etkiye sahip olmalı,
5. İntragastrik aktiviteye sahip olmalı, hızlı çözülmeli ve midede yayılmalı,
6. Mide mukozasını lokal olarak geçebilmeli,

7. Mide lümeninde ve mukus tabakasında farklı pH'larda, hem stabil hem de aktif olabilmeli,

8. Sistemik dolaşımdan mide mukozasına ve mukusa geçebilmeli.

H. pylori enfeksiyonunun eradikasyon endikasyonları ve bunun nasıl yapılacağı ile ilgili tartışmalar; özellikle 1'ci basamak sağlık hizmetlerinde devam etmektedir.

Bu karışıklıkları önlemek için, Avrupa Helicobakter Pylori Çalışma Grubu (EHPHG) tarafından ilk kez 1997 yılında, sonuncusu 2005'te yapılan uzlaşma toplantıları ile Maastrich 3–2005 Konsensus raporu adı ile yayınlanmıştır (Tablo–II) (21).

Tablo-II Maastrich3–2005 Konsensus raporuna göre, H. pylori eradikasyon endikasyonları:

<i><u>Kuvvetle tavsiye edilen endikasyonlar:</u></i>	<i><u>Bilimsel Delil Seviyesi</u></i>
1.DÜ veya GÜ (aktif veya komplikasyon içermeyen)	1
2.MALT-lenfoma (Midede)	2
3.Atrofik gastritis	2
4.Daha önce mide ameliyatı olanlar	3
5.Birinci derecede ailesinde mide kanseri hikâyesi olanlar	3
6.Hasta bizzat kendisi H. pylori için tedavi arzu ediyorsa	4

<i><u>Tavsiye edilen endikasyonlar ve ilgili durumlar</u></i>	<i><u>Bilimsel Delil Seviyesi</u></i>
1.Dispepsili hastalar	2
2.GÖRH	3
3.NSAİİ	2 – 1
4.İdiopatik trombositopeni (İTP)	3 – 4
5.Açıklanamayan Demir Eksikliği Anemisi (DEA)	3 – 4

6.Diğer tartışmalı ekstra gastrik endikasyonlar. (İKH, Serebro Vasküler Aksedan, Kronik Bronşit, Astım, KOAH, Kronik İdiopatik Nötropeni, Safra kesesinde kolesterol taşı oluşumu, İBH, Kolorektal Kanser, Kolonun Adenomatöz Polipi, İdiopatik Anterior Üveit, Blefaritis, Otitis Media, İdiopatik Ürtiker, Çocuklarda otoimmün tiroid hastalığı, Tekrarlayan aftöz stomatit, Glossitis, Halitozis, Lingual hiperplazi, Plazma Gherelin dinamiklerini etkileyerek, nöroendokrin, nörotoksinleri ve dopaminerjik nöronları etkileyerek parkinsonizmi hızlandırma)(22).

H. pylori ile enfekte insanların %100'de histopatolojik olarak gastrit olduğu halde çoğu asemptomatiktir. H. pylori ile enfekte olan yetişkinlerin yaklaşık %30'da dispeptik semptomlar vardır. Dispeptik yakınmaları olanların da yaklaşık %20' de peptik ülser, %1-2'de mide kanseri olma riski vardır. Dispeptik semptomlarla başvuran tüm hastalara H. pylori testi yapılmalıdır. Alarm semptomları varsa veya yaşı 40'ın üzerinde ise endoskopi dahil tüm inceleme yapılmalıdır.

Hastaya endoskopi düşünülüyorsa; H. pylori için non-invaziv testlerden Üre Nefes Testi veya H. pylori gaita antijen testi yapılmalıdır. Her ikisi de aktif enfeksiyonun varlığını gösterir. Hasta daha önce H. pylori'ye yönelik tedavi görmemişse Anti-Hp-IgG serolojik testi de yapılabilir. Bu test mevcut veya geçirilmiş enfeksiyonu gösterir.

H. pylori testi pozitif çıkınca eradikasyon düşünülüyorsa o zaman H. pylori testi yapılmalıdır. Çünkü H. pylori pozitif olgularda eradikasyon tedavisi yapılmalıdır. Asemptomatik olgularda H. pylori testi yapmak doğru değildir. Test sonucu pozitif çıkan hastaları tedavi etmemek etik değildir.

1. Dispepsili Hastalar ve H. pylori:

Dispepsi'li hastaların tedavisi ile ilgili karar hastaları;

1. Alarm semptomu olanlar,
2. Araştırılmış hastalar,
3. Araştırılmamış hastalar olarak 3'e ayırmak, tedavide kolaylık sağlayacaktır.

Alarm semptomu olan hastalar kesin olarak tedavi edilmelidir.

Alarm semptomları:

1. 45 yaşın üzerinde olmak
2. Semptomların yakın zamanda ortaya çıkması
3. Semptomların ciddi-ağır olması
4. Klinik olarak organik hastalık şüphesi (ülser, kanser, vs.) ateş, anemi, kilo kaybı, yutma güçlüğü, tekrarlayan kusma, karında kitle tespiti
5. Ailesel kanser hikâyesi
6. Tedavide cevapsızlık

7. Hastanın kanser endişesi taşıması
8. Hastanın daha önce tetkik edilmemiş olması
9. Klaritromisin direncinin %15–20 ‘nin üzerinde olduğu bölgelerde

Bu konuda Maastrich-3 ‘deki tavsiyeler şöyledir:

1. Araştırılmamış dispeptik hastalarda H. pylori’yi ‘test et tedavi et’ yaklaşımı uygundur.
2. Araştırılmış ve H. pylori ile enfekte non-ülser dispeptik hastalarda H. pylori eradikasyonu uygundur (23).
3. H. pylori’nin yüksek sıklıkla bulunduğu, gelişmekte olan toplumlarda, bütün 45 yaş üstü fonksiyonel dispepsili hastalarda, H. pylori’yi ‘test et tedavi et’ yöntemi uygundur (24).
4. H. pylori’nin düşük sıklıkla bulunduğu, gelişmiş toplumlarda, H. pylori’yi ‘test et tedavi et’ yöntemi yapılabilir. Fakat ampirik olarak asit süpresyon tedavisi daha uygundur.

Bu konuda H. pylori pozitif fonksiyonel dispepsili hastaları içeren, 21 randomize plasebo kontrollü çalışmanın meta analiz sonucunda, H. pylori eradikasyonunun, istatistiksel olarak önemli yararlı etkileri görülmüştür (25).

Di Mario ve arkadaşlarının yaptığı, 7 yıllık uzun dönem takibi sonucunda, H. pylori eradikasyonundan sonra, uzun dönem sonrasında hastaların %30-50’de dispeptik semptomlarda düzelme gözlenmiştir (26).

Bir başka çalışmada, yüksek oranda H. pylori bulunan gelişmekte olan toplumlarda, eroziv gastritli hastalar hariç endoskopisi normal olanlarda H. pylori eradikasyonunun klinik bir yararı gösterilmemiştir (27).

2. Gastroözofagial Reflü Hastalığı (GÖRH) Olanlar ve H. Pylori:

H. pylori enfeksiyonu ile GÖRH arasındaki ilişki hala tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar GÖRH ve onun komplikasyonları konusunda H. pylori’nin koruyucu rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir. Fakat diğerleri bu bulguları doğrulamamıştır. GÖRH için uzun süreli anti-sekretuar tedavi gerekiyor ise o zaman, H. pylori eradikasyonu tavsiye edilmektedir. Çünkü asit salgısının uzun süre baskı altına alınmasının, midenin fundus bölümünde H. pylori etkisiyle atrofik gastrit gelişmesini hızlandırdığı düşünülmektedir. Ne olursa

olsun H. pylori enfeksiyonunun mevcut olup olmadığının araştırılması ve mevcutsa, asit salgısının uzun süreli olarak baskı altına alınmasından önce, H. pylori'nin ortadan kaldırılması önerilmektedir. H. pylori'nin bilinen herhangi bir faydası olmadığından bu bakterinin eradikasyonunu ile diğer gastroduodenal komplikasyonlara ait bir risk faktörü de uzaklaştırılmış olacaktır (28).

H. pylori enfeksiyonu ve GÖRH arasındaki ilişkiyi inceleyen yayınlara bakıldığında, bu hala tartışmalıdır. Singapur'da yapılan 16.375 hastayı içeren geniş bir araştırmada H. pylori'nin düşük sıklıkla bulunduğu toplumlarda reflü özefajitinin daha sık bulunduğu gözlenmiştir (29).

Japonya'da yapılan, H. pylori ile reflü özefajiti arasındaki ilişkiyi inceleyen 6 yıllık takibi içeren başka bir araştırmada; reflü sıklığı, H. pylori'si tedavi edilmiş hastalarda, H. pylori pozitif hastalardan daha yüksek tespit edilmiştir (30).

Başka plasebo kontrollü iki araştırmada, GÖRH'da H. pylori pozitif ve H. pylori negatif hastalar arasında uzun dönemde bir fark olmadığı tespit edilmiştir (31).

3. H.pylori ve Non-Steroid Anti İnflamatuvar İlaç (NSAİİ) Kullananlar:

H. pylori ve NSAİİ'ler/aspirin, peptik ülser gelişmesi ve peptik ülser kanaması konusunda bağımsız risk faktörleridir.

H. pylori eradikasyonu NSAİİ kullanımına başlanmadan önce yapıldığında peptik ülser ve buna eşlik eden semptomların sıklığını azaltır. H. pylori eradikasyonu, antisekretuar tedavi uygulanan, ancak NSAİİ kullanmaya da devam eden hastalarda mide veya duodenum ülserinin iyileşmesini hızlandırmaz. NSAİİ kullanmaları nedeniyle yüksek risk altında olan hastalardaki H. pylori eradikasyonu, ülserlerin tekrar kanamasının önlenmesinde etkisizdir ve bu nedenle de söz konusu hastalarda uzun süreli proton pompası inhibisyonuna ihtiyaç vardır (33).

Peptik ülser anamnezi veren ve düşük dozda aspirin tedavisi altında olan hastalarda, H. pylori testi yapılmalı ve pozitif olanlarda eradikasyon yapılmalıdır (34).

Clopidogrel GİS kanama riskini arttırmaktadır. Bu durumda H. pylori'nin rolü değerlendirilmemiştir. Ülseri iyileşmiş ve aspirine bağlı ülser kanama anamnezi olan hastalarda, tekrarlayan ülser kanamalarına önleyen, aspirin ve PPI, clopidogrel'den daha üstündür. Bu günkü tavsiye, sadece aspirine karşı GİS uyumsuzluğu olan hastalarda clopidogrel verilmelidir. Ancak bu ispatlanmamıştır (35,36).

4. İdiopatik Trombositopenik Purpura (İTP):

Literatürler incelendiğinde İTP'li hastaların %58'nin H. pylori ile infekte olduğu görülmektedir. İTP'li hastalarda H. pylori eradikasyonu yapılınca trombosit sayısında önemli bir artış gözlenmiştir. Eradikasyon tedavisi vakaların yaklaşık yarısında kısmi veya tam olarak trombosit sayısında artış yapmıştır. Bu trombosit yüzeyindeki antijenik çapraz reaksiyonu ile ilgilidir (21, 37, 38).

5. Açıklanamayan Demir Eksikliği Anemisi (DEA):

H. pylori gastriti ile açıklanamayan demir eksikliği anemisi arasında ilişkinin olduğu giderek artmaktadır. Fe eksikliği olanlarda H. pylori varsa eradikasyon önerilmektedir (39).

6. Diğer Tartışmalı Ekstra Gastrik Endikasyonlar:

H. pylori ile mide dışındaki sistemlerle ilgisini araştırmak için birçok sistemde araştırma yapılmıştır.

İskemik kalp hastalığı, serebro vasküler aksedan, kronik bronşit, astım, KOAH, kronik idiyopatik nötropeni, safra kesesinde kolesterol taşı oluşumu, inflamatuvar barsak hastalığı, kolorektal kanser, kolonun adenomatöz polibi, idiyopatik anterior üveit, blefaritis, otitis media, idiyopatik ürtiker, çocuklarda otoimmün tiroid hastalığı, tekrarlayan aftöz stomatit, glossitis, halitosis, lingual hiperplazi gibi. Bazı yayınlar lehte bazı yayınlar ise ilgisiz sonuçlara varmışlardır. Bu konuda karşılaştırmalı ileri araştırmalara ihtiyaç vardır (23, 40, 41) .

F. H. PYLORİ ENFEKSİYONUNUN TANISI

H. pylori tanısında kullanabilecek, sensitivite ve spesifitesi oldukça yüksek testler mevcuttur. Eradikasyon tedavisi yapılacaksa H. pylori için test yapılmalıdır. H. pylori tanısında kullanılan testler iki grupta ele alınır:

1. İnvaziv testler (direkt testler —endoskopi gerektirir)
2. Non invaziv testler

1- İNVAZİV TESTLER

a- Histopatoloji: Endoskopi esnasında alınan antrum ve korpus doku örnekleri, formalinde fikse edilir. Hematoksilin-Eosin, Giminer, Warthin-Starry veya Giemsa ile boyanır. Tecrübeli patoloğların elinde histopatoloji altın standarttır. H. pylori'yi göstermede sensitivite ve spesivitesi %90'dan fazladır. Histopatoloji aynı zamanda gastrit şiddetini, metaplazi ve displaziye de ortaya koyar (42).

b-Sitoloji: Biyopsi örneği lam üzerine sürülerek gram boyası ile boyanırsa gram negatif spiral basiller kolayca görülür. Giemsa boyası da başarılıdır. Sonuçlar histoloji kadar güvenlidir (42).

c-Bakteri kültürü: H. pylori mikraerofilik bir bakteridir. H. pylori 37°C'de, %10 CO₂, %5 O₂ varlığında optimal ürer. Kanlı zengin besiyerinde düzgün, pigmentsiz, 0,5 mm çapında koloniler oluşturur. Kültürde başarılı olmak için biyopsi materyalinin hemen kanlı zengin besi yerine ekilmesi gerekir. Şayet hemen ekim yapılamayacaksa brucella broth, nutrient broth, beyin-kalp infüzyon broth gibi taşıma besiyerlerinden birinde biyopsi materyali tutulmalıdır. Transport ortamı olarak steril salin veya %10'luk glukoz da kullanılabilir. Böylece oda ısısında veya +50°C'de 5–6 saat saklanabilir. Brucella broth/glycerol vasatında 40°C de bir hafta, -20° C' de dört hafta, -70° C' de sınırsız süre saklanabilir.

H. pylori için kullanılan birçok besiyeri vardır. Bunlar; brucella agar, Mueller - Hinton ve Trypticase soya beyin-kalp infüzyon bazal besiyerine % 7–20 taze kan ilave edilerek hazırlanan vasatlardır. Besiyerinde diğer bakterilerin üremesine mani olmak için besiyeri hazırlanırken vankomisin,

trimetoprim, kolistin, polimiksin B ilave edilir. Mantar üremesini önlemek için de amfoterisin B eklenir. Besi yerinde 2–3 günde *H. pylori* görülmeye başlar, bazen 6–7 hatta 10 güne kadar görülmeyebilir. Koloniler genellikle küçüktür ayrıca transparant, grimsi renktedir. Kültürde üreyen *H. pylori* basil görünümünde ya da kıvrık sirküler şekildedir. Üretilen *H. pylori* üreaz, katalaz, oksidaz pozitifdir. Uzmanlaşmış laboratuvarlarda üretilebilme başarısı %90'nın üzerindedir. *H. pylori* üretilirse, kültür tanısı için altın standarttır. *H. pylori* *invivo* ve *invitro* oldukça yavaş üreyen bir bakteridir (43).

d-Biyopsi üreaz testi: Bu testin sensitivitesi %90, spesivitesi %100'dür. *H. pylori* aşırı miktarda üreaz salgıladığı için üreyi amonyuma çevirir ve ortamın pH' ını yükseltir. Bu nedenle endoskopide alınan biyopsi örneği üre sıvı besiyerine veya agar jeline yerleştirilir. Bu besi yerlerinde pH endikatörü olarak genellikle fenol kırmızısı kullanılır. Testin esas biyopsi örneğinde daha önceden oluşmuş üreaz aktivitesinin varlığına dayalıdır. Biyopsi materyalinde üreaz varsa üreyi parçalar. Açığa çıkan amonyak, pH' ı 7'nin üzerine çıkarır ve renk sarı kahverengiden pembeye dönüşür. Yanlış pozitiflik nadirdir. Bu durum, midede üreaz üreten (streptokok, stafilokok) bakteri varsa ortaya çıkar (44).

e-*H. pylori* polimeraz zincir reaksiyonu: *H. pylori*'nin farklı suşlarını belirlemede yararlı olduğu gibi, *H. pylori* tedavisinde kullanılan ilaçlara direnç olup olmadığı konusunda da katkısı vardır. Özellikle farklı suşlarla aynı zamanda enfekte olduğunu saptamada önemlidir. Ölü bakteri, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'da pozitif sonuç verebilir. Biyopsi forsepsleri iyi temizlenmezse daha önce muayene olan hastaya ait kirlilik yanlışlığa yol açabilir. Standart endoskopik biyopsi forsepsi temizliklerinin bile kontaminasyonu önlemediği ifade edilmektedir. PCR halen araştırma amaçlı kullanılmaktadır (45).

2- NON-İNVAZİV TESTLER

a-Seroloji: Serum örneklerinde veya tam kanda *H. pylori*'ye karşı oluşan spesifik IgG natüründeki antikorların saptanması esasına dayanır. Toplum taramalarında kullanılan standart testtir. Serolojik testlerin sensitivite ve spesifitesi %85-90'dır. Serolojik testler hastanın *H. pylori* ile karşılaştığını gösterir. Aktif enfeksiyonu gösterdiği gibi, geçirilmiş enfeksiyonu da gösterir. Çünkü başarılı eradikasyondan aylar hatta bazen birkaç yıl sonra dahi serolojik testler pozitif olabilir. Eradikasyonu göstermezler. Serolojik testler özellikle daha önce eradikasyon tedavisi görmeyen hastalara uygulanmalıdır. Serolojik testlerde yanlış negatif sonuçlar; çocuklarda, yaşlılarda ve immun yetmezliği olanlarda görülür. Serolojik testler tükürük, tam kan, kapiller kan ve idrardan örnek alınarak yapılmakta ise de duyarlılıkları konusunda sağlıklı sonuçlar yoktur (46).

b-Üre nefes testi: Sensitivitesi %95, spesivitesi ise % 100'dür. Üre nefes testinde ^{13}C veya ^{14}C ile işaretlenmiş üre solüsyonu içilmeden önce ve 30 dakika sonra nefes örnekleri alınır. Midede üreaz varsa işaretli üre parçalanır ve nefesle işaretli $^{13}\text{CO}_2$ veya $^{14}\text{CO}_2$ atılır.

Üre nefes testi aktif enfeksiyonu gösterir. *H. pylori* tedavisinden sonra, eradikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek için, kontrolün tedavinin bitiminden dört hafta sonra yapılması gerekir. Üre nefes testi, eradikasyon tedavisi sonrası en uygun tanı testi olarak kabul edilmektedir. ^{14}C , radyoaktif izotop olduğundan çocuklarda ve gebelerde kullanılmamalıdır (47).

c-Gaita antijen testi: Gaitada *H. pylori* antijenin varlığını göstermeye dayanır. Aktif enfeksiyonu göstermesi, sensitivite ve spesivitesinin %90'ın üzerinde bildirilmiş olması nedenleriyle günümüzde oldukça önemsenmektedir. Bu testin diğerlerinden farkı, coccoid forma geçmiş *H. pylori*'nin varlığını ortaya koymasındır (47).

Serolojik test hariç, Proton Pompa İnhibitörü (PPI) kullanılması tüm testler için yalancı negatifliğin bir kaynağıdır. Testten iki hafta önce PPI kesilmelidir.

G. TEDAVİ SEÇENEKLERİ:

H. pylori enfeksiyonunun tedavisindeki amaç mikroorganizmayı tamamen elimine etmektir. Bu nedenle günümüzde H. pylori'ye etkili antibiyotiklerin yanısıra mide asit sekresyonunu inhibe eden ajanlar da kullanılmaktadır. Maalesef günümüzde H. pylori'yi eradike edecek tek antibiyotik yoktur. Yan etkiye sahip olmayan, rezistans geliştirmeyen ideal antibakteriyel ajana bugün sahip değiliz.

H. pylori enfeksiyon eradikasyonunda ilk seçenek tedavi (First-line therapies) Maastrich3 2005 uzlaşısı raporundaki tavsiye; hala PPI + klaritromisin + amoksisilin ya da Metranidazol ile kombinasyonunu içeren üçlü tedavidir. Bununla birlikte H.pyloriye karşı dünyanın her yerinde rezistans artmakta ve standart üçlü tedavi ile eradikasyon oranları %44' e kadar düşmektedir (48, 49).

Birinci basamak tedavide bu rejimin bir-iki hafta süreyle kullanılmasının efektif olduğu ve eradikasyon oranlarının %75–90 arasında değiştiği bildirilmektedir. Ülkemizde, maalesef aynı kombinasyon kullanılarak değişik bölgelerde yapılan çalışmalarda, eradikasyon oranı yaklaşık olarak %45–60 arasında bulunmuştur. Tedavi başarısızlığındaki ana neden antibiyotik direncidir. Rezistans oranları bölgelere göre çok farklılık göstermektedir.

Bugün için H. pylori suşlarının ABD'de %12'si, Almanya'da %9,8'i, İtalyada %26,7'si klaritromisine rezistandır.

Türkiye'de direnç %25–40 seviyesindedir. 2001 yılında Engin D. ve ark. larının yaptığı çalışmada klaritromisin direnci %11,4, 2003 yılında Işıksal F ve ark. larının yaptığı çalışmada %24,5, 2004 yılında Çırak MY ve ark. larının PCR ile yaptığı çalışmada %16,9, 2004 yılında Özden A ve ark. larının E-test ile yaptıkları çalışmada %5, 2005 yılında Aydın A ve ark. larının PCR ile yaptıkları çalışmada %38,8, 2006 yılında Bağlan P. ve ark. larının FISH testi ile yaptıkları çalışmada %35 saptanmıştır (50).

Özçay F ve ark. larının 2004 yılında yaptığı 102 çocuğu kapsayan çalışmada klaritromisin rezistansını %18,2 bulmuşlar ve birinci basamak tedavi sonrası eradikasyon oranı % 75,5 bulunmuştur (51)

Gelişmiş batı ülkelerinde metranidazole karşı H. pylori'deki mevcut rezistans %10–50 sıklıktadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise H. pylori

suşlarında metranidazole rezistans %80-90'lara ulaşmaktadır. H. pylori'nin amoksisiline ve tetrasikline karşı nadir de olsa rezistans geliştirdiği bilinmektedir (52,53).

Eradikasyon oranları %80'nin altına düşen bölgelerde alternatif tedavi yaklaşımları önerilmektedir (53).

Bunlar;

1. Tedavi süresinin uzatılması

2. Dörtlü tedaviler

3. Ardışık tedaviler

4. Adjuvant tedavi

5. Farklı antibiyotiklerin (furazolidon, tinidazol, levofloksasin) bulunduğu protokollerini içeren tedavi şemaları (54)

Üçlü tedavinin süresi konusunda tartışma halen devam etmektedir. Bazı araştırmacılar 7–10 günlük bir süreyi uygun görürken diğerleri en uygun sürenin 14 gün olduğunu kabul etmektedir. Üçlü tedavi 2 hafta yapılırsa eradikasyon oranı 7 günlük tedaviden %7–9 daha iyidir (52, 54).

Dörtlü tedaviler (PPI, bizmut, tetrasiklin ve metranidazol) ile özellikle yaşlılarda memnuniyet verici oranlar elde edilmiştir (55).

Ardışık tedavi şemaları ile (14 gün PPI, ilk 7 gün amoksisilin, 8–14 günler metronidazol, tetrasiklin) %90'ın üstünde eradikasyon oranları gözlenmiştir. Klaritromisine resistan hastalarda, İtalyan grubu ardışık (sequential) tedavi ile 7 gün PPI, amoksisilini takiben 7 gün PPI, tetrasiklin, metranidazole ile %90'ın üstünde bir eradikasyon sağlamışlardır (56).

Ülkemizde Kliniğimizce yapılan araştırmada aynı protokolle, eradikasyon oranı ancak %80,1 bulunmuştur (57).

Adjuvan tedavi ve farklı antibiyotikler ile eradikasyon oranları arttırılmaya çalışılmış, ancak umulan sonuç alınamamıştır. Bovine lactoferrin ile yapılan adjuvan tedavide H. pylori koloni oranını azaltmakta, fakat tam eradikasyon sağlamamaktadır. Farklı antibiyotiklerin (furozolidon, tinidazol, levofloksasin) bulunduğu protokoller genelde 2'ci basamakta kullanılmakta fakat eradikasyon oranı düştükçe bu antibiyotikler 1'ci basamak tedavide kullanılmaktadır (58, 59).

Ayrıca antibiyotik kombinasyonunda şu noktalar dikkate alınmalıdır;

- Kullanılan rejimlerde amoksisilin ampisilin ile, tetrasiklin doksisisiklin ile ve klaritromisin eritromisin ile değiştirilmemelidir.
- Bakterinin DNA ve RNA yapısını etkileyip, nükleik asit sentezini bozarak etkili olan kinolonlar (ciproxin, levofloxacin, moxifloksasin), nitroimidazoller (metronidazol), rifampisin aynı grupta yer almamalıdır.
- Bakterinin ribozom fonksiyonunu bozarak etkili olan tetrasiklinler ile makrolid grubu (klaritromicin, eritromicin, azitromicin) antibiyotikler aynı grupta yer almamalıdır.
- Hücre duvar sentezini bozan penisilinler ile ribozomal fonksiyonu bozan tetrasiklinler mümkünse bir arada kullanılmamalıdır. Çünkü tetrasiklin protein sentezini inhibe ettiği için penisilinlerin antibakteriyel etkinliğini antagonize etmektedir. H. pylori eradikasyonunda yapılan çalışmalarda invitro olarak antibakteriyel etkide azalma olmadığı, fakat invivo olarak bu iki ilaç kombinasyonunun eradikasyonda düşük oranda tespit edilmesi nedeniyle H. pylori tedavisinde kullanılmaması önerilmektedir.

H. Pylori tedavisi için Maastrich–3 2005 uzlaşısı raporundaki tavsiye:

Proton pompa inhibitörleri:

Üçlü tedavide birbirlerinden etkinlik yönünden farklılığı yoktur. Omeprazole 20 mg, lansoprazole 30 mg, rabeprazole 20 mg, esomeprozole 40 mg, pantoprazole 40 mg günde iki kez kullanılmalıdır.

Antibiyotikler:

Betalaktamlar: Amoksisilin 1 gram günde iki kez,

Makrolidler: Klaritromisine 500 mg günde iki kez,

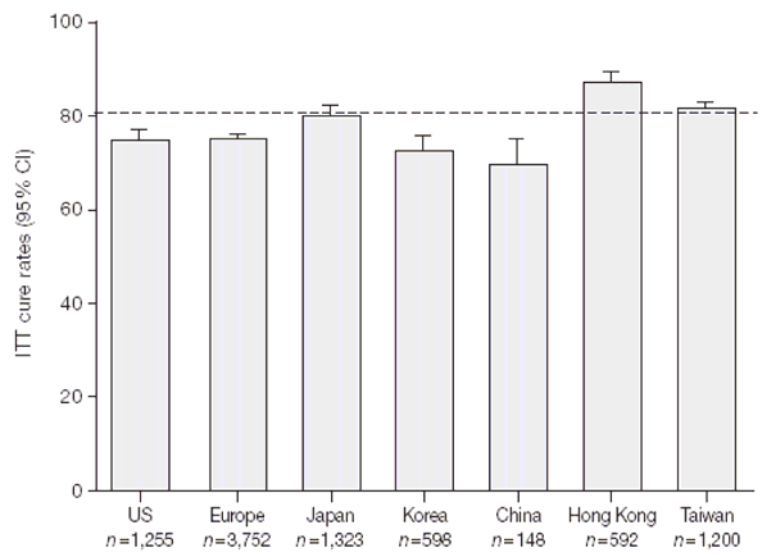
Nitroimidazoller: Metranidazole 500 mg günde üç kez, tinidazol günde 2 kez, tetrasikline 500 mg günde dört kez

Bizmut tuzları: bismuth citrate 120 mgr günde dört kez kullanılmalıdır (60) .

Bazı araştırmacılar üçlü tedavilerde proton pompa inhibitörlerini ya da bizmut tuzlarını üçlü tedavi tamamlandıktan sonra 2 hafta daha devam etmeyi önermektedir.

Ranitidine bizmuth sitrate ile yapılan üçlü tedavilerde antibiyotik rezistansı daha az gelişir. PPI'lı üçlü tedavilerde eradikasyon sonuçlarının klaritromisin rezistansı nedeniyle düşük olması sebebiyle ülkemizde ilk seçenek tedavinin ranitidine bizmuth citrat'lı üçlü tedavi olması ya da PPI, bismuth subsitrate, tetrasikline, metranidazole 4'lü kombinasyonu önerilmektedir.

Graham ve ark. larının derlediği ve Gastroentero-Hepatoloji 2008 ' de yayınlanan yazıda, üçlü tedavi ile şekilde belirtilen sonuçlar bulunmuştur (16) . (Şekil–1)



Şekil–1 Çeşitli ülkelerde 100’den fazla hastayı içeren üçlü tedavi sonucu elde edilen kür oranları

H. ANTİMİKROBİYAL REZİSTANS

H. pyloriye karşı antimikrobiyal direnç prevalansı; bölgeler arasında ve ülkeler arasında değişiklik gösterir. Bölgesel dirence dayalı alternatif antibiyotiklerin kullanımı, eradikasyon oranını artırabilir. Klaritromisin direnci, nitroimidazol direncinden sonra tedavi etkinliğini en çok etkileyen özelliktir (3,61) . Gelişmekte olan ülkelerde yaygın ve bazen de gelişigüzel antibiyotik kullanımı endüstriyel ülkelere göre daha fazla direnç prevalansı ile sonuçlanır (4).

Avrupa’da Kuzey, Doğu ve Güney Avrupa arasında belirgin farklılıklar vardır ve sırası ile %4,2, %9,3 ve %18’dir.

Perri ve ark. larının İtalya’da 2001 yılında yaptıkları çalışmada %8,3 oranında primer klaritromisin direnci tespit etmişler ve klasik üçlü tedavi ile %63 eradikasyon sağlamışlar (62).

Polonya’da Dzieniszewski ve ark. larının yaptığı ve 2005 te yayınlanan çalışmada populasyonun klaritromisine karşı %28’ inde primer rezistans saptanmıştır (61).

Kore’de Sung ve ark. larının 2005 yılında 93 hastayı içeren, disk difüzyon yöntemi ile yaptıkları çalışmada klaritromisine direnç oranı % 17,2 bulunmuş. Metranidazole ise %33,3 oranında direnç saptanmıştı. Duyarlı olduğu tespit edilen ilaçlarla yapılan üçlü tedavi sonucu 36 hastanın 32’sinde eradikasyon sağlanmış. Tedavi yetersizliğine klaritromisin direncinin yol açmış olabileceği düşünülmüştür (63).

Vakil ve ark. larının 1993–1996 yılları arasında ABD’lerinde yaptıkları çalışmada; 1993–94 arasında hastaların %4’ünde klaritromisin dirençli H. pylori suşu saptamışken, 1995–96 arasında %12,6 hastada klaritromisin dirençli H. Pylori suşu saptamışlar. Dirençli olan hastaların % 25’ inin daha önce klaritromisin ile tedavi oldukları görülmüştür (64) .

Sekonder klaritromisin direnci, bu ilacı içeren tedavinin yetersizliğinden sonra oldukça yüksektir ve % 60'lara kadar ulaşır (6) .

Brian ve ark. larının Alaska’da 2003 yılında yaptıkları 125 hastayı içeren çalışmada hastaların 37’si (%30) klaritromisine dirençli, 83’ü (%66) metranidazole dirençli bulunmuş. Klaritromisine direncin daha önce makrolid kullanımı ile ilişkili olduğu ve rezistansın daha önce kullanılan

klaritromisin dozu ile arttığı belirtiliyordu. Klaritromisin esaslı tedavi edilen 53 hastadan, klaritromisin direnci olan 13 hastanın 10' u (%77) tedavi olmadığı, klaritromisin duyarlı H. pylori suşu barındıran 40 hastadan 5'inde (%13) tedavinin yetersiz kaldığı saptanmıştı (65) .

Toracchio ve ark. larının İtalya'da yaptığı çalışmada ise H. pyloriye karşı primer klaritromisin direnci %23,4 bulunmuş iken sekonder direnç %82,3 bulunmuştu (66).

İtalya'da yapılan son çalışmada oldukça yüksek bir antibiyotik direnci gösterilmiştir. H.pyloriye direnç oranı klaritromisinde %16,9, metranidazolde %29,4, levofloksasinda %19,1 bulunmuştur. Klaritromisin direnci nonülser dispepsi hastalarında peptik ülser olanlardan oldukça yüksek bulunmuş. (%19,1'e karşı %0, p=0.02) Levofloksasine direnç klaritromisin ve metranidazol direnci olan suşlarda daha fazla sıklıkta bulunmuştur.

Vincenzo ve ark. larının İtalya'da yaptıkları başka bir çalışmada 1989–90 yılları arasında 147 hastanın 15'inde (%10,2) klaritromisin direnci bulmuş iken 2004–2005 yılları arasında 178 hastanın 38'inde (%21,3) direnç bulmuşlardır (67).

Boyanova ve ark. larının yaptığı son çalışmada klaritromisinle tedavi edilmemiş erişkinlerde %17,8, tedavi edilmişlerde %45,1 ve tedavi edilmemiş çocuklarda %18,7 oranında klaritromisine rezistans saptamışlardır. Klaritromisine primer rezistans oranı 1996–1999 yılları arasında %10 civarında iken 2005–2007 arasında %17,9'a yükselmiştir (68) .

Belçika'da florokinolonlara karşı direnç %17 bulunmuştu.

Hollanda'da 1997–2002 yılları arasında yapılan çalışmada ortalama metranidazol direnci %14,4 bulunmuş iken klaritromisin direnci % 1,0 bulunmuş. Primer metranidazol direnci 6 yıl boyunca sabit seyrederken klaritromisin direncinde bir azalma eğilimi gözlenmişti. Hollanda'da antibiyotik satışı diğer Avrupa Birliği ülkelerinden daha az olduğundan bazı Akdeniz ülkelerine göre direnç 4 kat daha düşüktür. Bu yüzden eradikasyon oranını artırmak için bölgelere göre özel tedavi rejimleri geliştirilmelidir (8).

Kuzey ve Güney Avrupa arasında direnç bakımından önemli ayrım vardır. Klaritromisine H. pylori rezistansı Kuzey Avrupa'da %5'ten az iken, Güney Avrupada %20'ler dolayındadır.

H. pylorinin klaritromisin direncinde yetişkin ve çocuk direnci ayrı değerlendirilmelidir. Klaritromisin direncinin sebebi, daha önceden makrolid kullanımıdır. Çocuklarda daha sıktır, çünkü son zamanlarda makrolid kullanımı artmıştır. Avrupa'da çocuklarda direnç %12,5- % 23,5 arasında bulunmuştur (69).

Direnç olan hastada yeni tedavi protokolü; önceden kullanılan antibiyotikleri içermemelidir. H. pylori başarılı tedavi edilirse, yetişkinlerde reenfeksiyon oranı yıllık %1'den az olmaktadır (70).

1998'de 17 ülkeyi kapsayan, 22 ayrı merkezde çok merkezli prospektif bir çalışma yapılmıştı. Klaritromisin için primer direnç oranı %9,9 bulunmuş. (%8,3 - %11,7). İlginç olarak; Orta, Kuzey ve Güney Avrupa'da farklı oranlar mevcuttur.

Benzer bir çalışma yakın zamanda Avrupa'da çocuklar üzerinde yapılmıştı. 14 ülkeden 16 pediatri merkezinde 4 yıllık periyodu kapsayan çalışmada %24'lük rezistans oranı tespit edilmiştir. (1999–2002) (70).

Boyanova ve ark. tarafından Doğu Avrupa'da prospektif yapılan çalışmada; 1998–2000 yılları arasındaki direnç araştırılmıştı. Klaritromisin direnci 1996 yılında %8,9 iken 1998 yılında %10,6'ya yükseldiği gözlenmiş. (Ortalama %9,5) Ülkeler arasında belirgin fark yoktu. Dış Avrupa'da klaritromisin direnci daha düşük olma eğilimindedir (71).

Orta Doğu'da; direnç prevalansı İsrail'de %5,4, İran'da %17, Uzak Doğu'da; Japonya'da %11–12, Hong Kong'da %4,5, Kore'de % 5–6 bulunmuştu.

Rafeey ve ark. larının İran' da 2003–2005 yılları arasında yaptıkları; 1,5 ile 16 yaş arasındaki 100 çocuğu kapsayan çalışmada %16 oranında klaritromisin direnci saptamışlar (72).

Huang J-Q ve ark. larının 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada; 22 çalışmanın metaanalizinde 7 günlük PPI + klaritromisin+ amoksisilin kullanımı sonrası peptik ülser hastalarında %82,1, nonülser dispepsili

hastalarda ise %72,6 oranında H. pylori eradikasyonu sağlandığı gösterilmiştir (73).

Ndip ve ark. larının Kamerun'da yaptıkları 77 hastayı kapsayan çalışmada; 71 hastada (%92,2) H. pylori pozitif bulunmuş. Antibiyotik duyarlılığı tetrasiklin için %56, klaritromisin için % 55,3, amoksisilin için %14,4 ve metranidazol için %6,8 saptanmış. Klaritromisin resistansı erkeklerde %42,1, kadınlarda %46,7, metranidazol rezistansı ise %89,5'e karşılık %94,7 ($P > 0.05$) bulunmuştu (74).

Aldana Perez ve ark. larının Japonya'da yaptıkları çalışmada; 1995–2000 tarihleri arasında 593 Japon hastadan elde ettiği H.pylori izolatlarının primer rezistansı klaritromisin, metranidazol ve amoksisilin için sırasıyla %11, %9 ve % 0,3 bulunmuş. Klaritromisin rezistansı 1997-1998'de %7 iken, 1999-2000'de %15.22'ye belirgin şekilde yükseldiği gözlenmişti (75).

Marais A. ve ark. larının antimikrobiyal direnç konusunda yaptığı çalışmada; nonülser dispepsili olgularda rezistan suç barındırma oranı 1 iken; peptik ülserli olgularda bu oran 0,08 saptanmıştı. (%95 CI 0,011–0,66). Fransız çalışmasında; H. pylori tedavisi için risk faktörleri açısından sonuçlar benzer bulunmuştu. Peptik ülserlilerde suşların %5,6'sında, nonpeptik ülserlilerde %16,7'sinde rezistans tespit edilmiştir. Rezistans olan az vakada mutasyon tespit edilmişti (76).

H. pyloride tedavi yetersizliğinin en büyük sebebi, tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı bakteriyel direnç ve ilaç alımına düşük uyum problemidir. H. pyloriye karşı klaritromisin rezistansı 23S rRNA noktasındaki mutasyondan kaynaklanır ve makrolidlerin ribozoma bağlanması engellenir. Nokta mutasyonları A2142G, A2143G ve A2144G pozisyonundaki adeninin guanine geçişinde veya A2142C ve A2143C pozisyonundaki adeninin citozine dönüşümünde olur. A2142G, A2143G mutasyonları en sık görülürken A2142C daha az görülür. Diğer nokta mutasyonları A2115G, G2141A ve T2717 daha az görülür (61) .

H. pylori rezistansı, kromozomal mutasyonlara bağlıdır. Rezistansın iletimi vertikaldir, rezistanstaki artış seleksiyonun ciddiyetine göre artar. H. pylorinin farklı suşlarındaki genetik değişiklikler farklı meydana gelir (76).

Klaritromisin rezistansı ile ilgili nokta mutasyonları PCR ile ortaya konmuştur. Mutasyonlarda etkilenen genler yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Birçok vakada kısıtlı sayıda nokta mutasyonu mevcuttur (76,77).

Avrupa'da ve Amerika'da en sık görülen nokta mutasyonu A2143G ve A2142G olup (%69,8), prevalansı %53 ile %95 arasında değişir (78,79).

Asya'da ise en sık görülen mutasyon A2144G' dir. Diğerleri A2142G(%11,7) ve A2142C(%2,6)'dir. Bu mutasyonlar arasında klinik farklılıklar minimaldir. Genetik mutasyonlar olmakla birlikte antibakteriyel tedaviye karşı in vitro ortamda bakteriyel rezistanslar farklı oranlarda ortaya çıkmaktadır (80,81).

Kore'de Lee ve ark. larının 2004 yılında 114 hastayı içeren yaptıkları çalışmada 23 (%20,2) hastada H. pylorinin 23S rRNA yapısında A2142G ve A2143G mutasyonlarından kaynaklanan klaritromisin rezistansını tespit etmişlerdi (82).

Thomas K.W. Ling ve ark. larının Hong Kong, Prince of Wales Hastanesinde H. pylori duyarlılığı için yaptıkları çalışmada; 1997–2001 arasındaki 1118 mide biyopsi örneklerinden elde edilen nonduplike H. pylori izolatında disk difüzyon yöntemiyle klaritromisin ve metranidazole karşı test yapılmıştı. Klaritromisine dirençli 23 H. pylori suçu mutasyon bölgelerine göre PCR'la randomize seçilmişti.

Klaritromisin rezistansının 1997'de %4,7 iken, 2000'de %10,3' e çıktığı görülmüştü. Bu oran 2001'de % 8,3' e gerilemişti. 23 klaritromisin rezistan izolat test edildiğinde; 22 izolatın A2144G nokta mutasyonuna bağlı olduğunu tespit etmişlerdi. Bir izolat A2143G nokta mutasyonuna bağlı imiş. Klaritromisin direnci tedavi sonrasında da bulunmuştu.

Hong Kong'da saptanan klaritromisin direncinin çoğunun 23S rRNA'daki A2144G'deki nokta mutasyonu nedeni ile olduğu ve direncin; klaritromisin duyarlı suçlardan değil, farklı suçlar nedenli olduğunu belirtmişlerdir (83).

Yılmaz Ö. ve ark. larının 54 hastayı içeren yaptıkları çalışmada histopatoloji ile 45 hastada H. pylori pozitif bulunmuş. FISH testi ile 43 hastanın biyopsi örneğinde H. pylori saptanmış. Bu hastaların 14'ü klaritromisin duyarlı, 4'ü klaritromisin dirençli ve 27 tanesi klaritromisin

duyarlı ve dirençli karışık suşlardan oluşuyormuş. Bu hastaların gaita örneklerinden real-time PCR ile yapılan incelemede A2142G, A2143G, A2142C, A2142G mutasyonları tespit edilmiş. Ayrıca gaita PCR incelemesi ile FISH metodunda negatif olan bazı örneklerde ilave pozitif örnekler saptanmış (84).

Can F ve ark. larının yaptığı çalışmada; 117 biyopsi örneğinin 70'inde histopatolojik inceleme ve FISH testi ile H. pylori pozitifliği saptanmış. Kültür ile ise 47 tanesinde saptanabilmiş. Kültürde saptananlardan bir tanesi histopatoloji ve FISH testi ile saptanmamıştı. E test ile H. pylori izolatlarının 46 tanesinin 11' inde klaritromisin rezistansı bulunmuş. Bunlar FISH testinde de saptanmıştı (85).

Şimşek H ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; Haziran 1999–2001 arasında tedavi edilmiş nonülser dispepsili 66 hastadan elde edilmiş H. pylori izolatları çalışılmış. Ve Klaritromisin rezistans oranı % 24,2 bulunmuş. Rezistans oranlarının Ocak 2001'den sonra %16,7 (7/42)'den %37,5 (9/24)'e yükseldiği saptanmıştır ($p=0.035$) (86).

III-HASTALAR VE YÖNTEM

Bu çalışma; GATA Gastroenteroloji Polikliniğine kronik dispeptik yakınmalarla Mart 2006 ile Ocak 2008 tarihleri arasında müracaat eden hastalar arasında yapıldı. Epigastrik ağrı, retrosternal yanma, bulantı, şişkinlik, gaz ve geğirme semptomlarının en az üçünün 4 haftadan az olmamak koşulu ile var olması çalışmaya alınma kriteri olarak belirlenmiştir. Daha önceden H. pylori için tedavi almış, kolelitiazisli ve endoskopiden üç ay öncesine kadar olan dönemde nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç kullanmış olan (dispeptik yakınmalara neden olabileceğinden), kanama diyatezi, kronik (kardiyak, pulmoner, hepatik, renal) hastalıkları bulunan, 18 yaşından küçük, 65 yaşından büyük olan ve daha önce mide-duodenuma ilişkin ameliyat geçirmiş olan ve başka hastalıklar nedeni ile daha önce klaritromisin kullanmış olan hastalar çalışmaya alınmadılar.

Çalışmaya 56 hasta alındı. Yapılan ilk endoskopide histopatolojik olarak ve hızlı üreaz testi ile H. pylori pozitif çıkan 51 hasta çalışmaya dâhil edildi. Hastalara lansoprazol 30 mgr 2x1, amoksisilin 1000 mgr 2x1, klaritromisin 500 mgr 2x1, 14 gün süre ile verildi.

Tedavi verilen hastalardan 46 tanesine ilk endoskopiden 8 hafta sonra kontrol endoskopi yapılabildi. Aynı şekilde biyopsiler alındı.

Çalışmaya 14 erkek, 32 kadın olmak üzere 46 hasta alındı. Ortalama yaşları $37,05 \pm 11,571$ idi. Hastaların 15' i sigara içiyor, 31'i içmiyordu. Hastaların özellikleri Tablo-III' te gösterilmiştir.

TABLO-III Hastaların özellikleri

Özellikler	hasta sayısı	%
<u>Cinsiyet</u>		
Erkek	14	30,4
Kadın	32	69,6
<u>Histopatoloji</u>		
Tedavi öncesi pozitif	46	100
Tedavi sonrası pozitif	18	39,1
<u>PCR</u>		
Tedavi öncesi pozitif	46	100
Tedavi sonrası pozitif	26	56,5

Hastalara yapılan endoskopide histopatolojik inceleme için antrum, büyük ve küçük kurvaturdan 2'şer adet toplam 6 adet, hızlı üreaz testi (Clo test) için antrumdan 1 adet, klaritromisin rezistans çalışması için antrum büyük kurvaturdan 2 adet biyopsi alındı.

Histopatolojik inceleme için alınan biyopsi örnekleri formol solüsyonlu tüplere konulup patoloji laboratuvarına gönderildi.

Klaritromisin rezistans çalışması için alınan biyopsiler, içinde 1 cc Serum Fizyolojik bulunan ependorf tüplerine konulup çalışma için -20°C' lik dondurucuya konuldu.

IV- MATERYAL VE METOD

A-HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Histopatolojik inceleme için alınan örnekler % 10'luk formolde tespit edilip takip işlemine alındıktan sonra parafin bloklar içine gömüldü. Parafin bloklardan 4 µm kalınlığında bir adet Hematoksilen Eozin (HE) ve bir adet *Toluidine Blue* boyamaları için kesitler hazırlandı. Toluidine Blue boyama sonucunda mide mukozasındaki *H. pylori*ler koyu mavi boyanmış basiller olarak izlendi. HE boyama ile de diğer morfolojik bulgular değerlendirildi.

B-DNA ELDE EDİLMESİ

Endoskopi ile alınan mide biyopsi örnekleri çalışılncaya kadar -20°C'de saklandı. Bütün çalışma için örnekler tamamlandıktan sonra, örneklerden DNA ekstraksiyon işlemine geçildi. Bu amaçla dokular 10 mikrolitre pronaz E (68 mg/ml) ve 500 mikrolitre K buffer uygulanarak 42°C'de 3–4 saat bekletildi. Bu şekilde dokunun parçalanması sağlandı. Daha sonra parçalanmış dokulardan DNA'nın proteinlerden temizlenmesi amacıyla alkali fenol-kloroform ekstraksiyon metodu uygulandı. Bu çalışma için 1,7 ml'lik ependorf tüp içine 400 mikrolitre bir önceki basamakta parçalanmış olan doku örneği ile 500 mikrolitre alkali fenol-kloroform karıştırıldı ve vortekslendi. Bu karışım 12000 rpm'de +4°C' de 5 dk santrifüj edildi. Daha sonra iki faz olan tüp'den üst temiz, şeffaf olan faz yeni bir ependorf tüp'e aktarıldı. Eğer üst faz bulanık ise yeniden 500 mikrolitre alkali fenol-kloroform ilave edilerek işlem tekrarlandı. Bu yeni tüp'ün üzerine 600 mikrolitre isopropil alkol eklenerek tüp vortekslendi ve karışım 12000 rpm'de +4°C'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüjden alınan tüplerin sıvı kısmı dökülerek pellet'in üzerine 500 mikrolitre %75 etil alkol ilave edildi ve hafifçe vortekslendi. Daha sonra tüpler 12000 rpm'de +4°C'de 10 dk santrifüj edildi ve pellet'e dikkat edilerek tüplerin sıvı kısmı döküldü. Tüpler oda ısısında ters çevrilerek 15–25 dk süre ile kurumaya bırakıldı. Kuruyan tüplerin içine 400 mikrolitre distile su ilave edildi ve çalışılncaya kadar -80°C' de saklandı.

TaqMAN PCR

DNA ekstraksiyonu yapılmış olan bütün örnekler iCycler quomo4 (Bio-Rad, ABD) cihazı kullanılarak TaqMAN real time PCR ile analiz edildi. Bu amaçla her bir örnek için aşağıdaki Master Miks ve oligonükleotidler kullanıldı.

10X reaksiyon Buffer	2,5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	6,0 µl
dNTP (2,5 mM)	2,0 µl
PrimerSense ve Antisense (10 pmol)	1 µl
TaqMAN Prop (5 pmol)	0,5 µl
Hotstart Taq DNA polimeraz (5 U/ µl)	0,2 µl
Distile Su	7,8 µl
Örnek DNA'sı	5,0 µl

H.Pylori için kullanılan OLİGONÜKLEOTİDLER

Sense HelP1 ggtaaataccgacctgcatgaat

Antisense HelP2 agcattgtcctgcctgtggataa

TaqMAN Prop HelProp FAM accttactacaacttagcactgctaataat BHQ

Yukarıda açıklandığı gibi hazırlanan örnekler optik tüplere dağıtıldıktan sonra TaqMAN real time PCR testinin gerçekleşeceği cihaza yerleştirildi. Daha sonra aşağıdaki program ile 40 siklus yapılarak PCR işlemi gerçekleştirildi.

Ön denatürasyon ve Taq DNA aktivasyonu	5 dk
Denatürasyon	15 saniye
	} 40 Cycles
DNA sentezi ve prop okuma	1 dk

PCR sonrası cihaz programı sayesinde değerlendirmeler yaparak ilgili grafikleri oluşturdu.

SYBR Green I ile Melting Curve Analizi

DNA ekstraksiyonu yapılmış olan bütün örnekler iCycler quomo4 (Bio-Rad, ABD) cihazı kullanılarak pratik mutasyon taraması amacıyla SYBR Green I ile Melting Curve Analizi ile test edildi. Bu amaçla her bir örnek için aşağıdaki Master Miks ve oligonükleotidler kullanıldı.

10X reaksiyon Buffer	2,5 µl
MgCl ₂ (25 mM)	6,0 µl
dNTP (2,5 mM)	2,0 µl
PrimerSense ve Antisense (10 pmol)	1 µl
SYBR Green I (50X)	0,5 µl
Hotstart Taq DNA polimeraz (5 U/ µl)	0,2 µl
Distile Su	7,8 µl
Örnek DNA'sı	5,0 µl

H.Pylori SYBR Green I Melting Curve analizi için kullanılan OLİGONÜKLEOTİDLER

Sense HelP1 ggtaaataccgacctgcatgaat

Antisense HelP2 agcattgtcctgcctgtggataa

Yukarıda açıklandığı gibi hazırlanan örnekler optik tüplere dağıtıldıktan sonra SYBR Green I ile Melting Curve Analizi için aynı cihaza yerleştirildi. Daha sonra aşağıdaki program ile 40 siklus yapılarak PCR işlemi gerçekleştirildi ve program sonuna eklenen melting curve analizi ile test tamamlandı.

Ön denatürasyon ve Taq DNA aktivasyonu	5 dk	
Denatürasyon	15 saniye	
		} 40 Cycles
DNA sentezi	1 dk	
Melting Curve Analizi	4 saniye	55°C→95°C

C- DNA DİZİ ANALİZ ÇALIŞMALARI:

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası bakteri varlığı tespit edilen biyopsi örneklerinden Sense ve Antisense primerler kullanılarak laboratuvarımızda elde edilen ampliconlar DNA dizi analizi amacıyla MWG (Almanya) firmasına gönderildi ve dizi analizleri yaptırıldı.

V-BULGULAR:

Hastalara ait bulgular Tablo IV'te gösterilmiştir.

TABLO- IV

Hasta Tanı	T.Ö.PCR	SYBR	DNA Sek.	T.S.PCR	SYBR	DNA Sek.	Histop.
1	Gastrit	5.0x10 ⁶	-	?	-	-	-
2	Gastrit	7.1x10 ⁴	-	?	-	-	-
3	Gastrit	<u>3.6x10⁷ (87.1°C)</u>	-	-	?	-	-
4	Gastrit	5.0x10 ⁴	-	?	-	-	-
5	Mide ülseri	<u>6.3x10⁷ (87.1°C)</u>	-	3.6x10 ⁴	-	-	-
6	Gastrit	<u>8.3x10⁶ (87.1°C)</u>	-	2.3x10 ⁴	?	+	+
7	Gastrit	8.3x10 ⁵	-	-	?	-	-
8	Gastrit	6.5x10 ⁵	-	?	?	-	-
9	Gastrit	9.1x10 ⁵	-	+	2.0x10 ⁴	-	-
10	Gastrit	<u>8.8x10⁵ (87.1°C)</u>	++	2.1x10 ⁷	-	+	+
11	Gastrit	<u>7.6x10⁴</u>	-	-	(80.3°C)	?	+
12	Gastrit	8.0x10 ⁶	-	-	-	-	-
13	Gastrit	6.6x10 ⁶	-	-	3.2x10 ⁴	?	+
14	Gastrit	6.0x10 ⁴	-	-	-	?	-
15	Gastrit	6.6x10 ⁵	-	-	5.0x10 ³	+	-
16	Gastrit	5.1x10 ⁶	-	+	-	-	-
17	Gastrit	1.0x10 ⁵	-	-	7.6x10 ⁴	+	-
18	Gastrit	4.2x10 ⁴	-	-	-	?	-
19	Gastrit	6.6x10 ⁵	-	?	3.1x10 ⁴	?	+
20	Gastrit	7.1x10 ⁵	-	-	2.6x10 ³	?	+
21	Mide ülseri	4.3x10 ⁴	-	-	-	?	+
22	Duo.ülser	2.1x10 ⁴	-	-	2.2x10 ³	?	-
23	Gastrit	7.7x10 ⁶	-	-	6.6x10 ⁵	-	+
24	Duo.ülser	8.1x10 ⁶	-	+	2.8x10 ⁴	?	-
25	Gastrit	6.3x10 ⁴	-	-	-	?	-
26	Gastrit	4.2x10 ⁴	-	+	-	?	-
27	çöliak	7.6x10 ⁵	-	-	-	?	-
28	Gastrit	5.2x10 ⁴	-	-	-	?	-
29	Gastrit	3.3x10 ³	-	-	-	?	-
30	Gastrit	7.1x10 ⁴	-	+	3.3x10 ⁵	-	+
31	Gastrit	8.6x10 ⁵	-	-	2.6x10 ⁵	+	+
32	Gastrit	8.8x10 ⁷	-	-	3.2x10 ⁴	-	-
33	Gastrit	8.0x10 ⁵	-	-	5.5x10 ⁶	+	+
34	Gastrit	9.4x10 ³	-	-	-	?	-
35	çöliak	<u>3.6x10⁶</u>	-	-	8.2x10 ⁵ (87.1°C)	?	+
36	Gastrit	7.4x10 ⁶	-	?	-	?	-
37	Gastrit	6.7x10 ⁶	-	?	6.6x10 ⁵	?	+
38	Gastrit	9.2x10 ⁵	-	+	1.2x10 ³	?	-

39	Gastrit	6.2x10 ⁵	-	+	2.6x10 ³	?	+
40	Mide ülseri	7.1x10 ⁴	-	-	3.2x10 ⁵ (87.1°C)	+	+
41	Gastrit	7.7x10 ⁵	-	+	6.6x10 ⁵	?	-
42	Gastrit	9.1x10 ⁵	-	-	4.6x10 ⁵	-	-
43	Gastrit	2.3x10 ⁵	-	-	7.6x10 ⁶ (87.9°C)	-	+
44	Gastrit	6.3x10 ⁶	-	-	-	?	-
45	Gastrit	7.3x10 ⁵	-	-	3.1x10 ⁴	?	+
46	Gastrit	6.4x10 ⁵	-	-	2.6x10 ³	+	+

T.Ö. PCR = Tedavi Öncesi PCR ile saptanan

T.S.= Tedavi Sonrası PCR ile saptanan

SBYR= Melting Curve Analizi ile rezistan saptanan

DNA Sek.= DNA Sekans Analizi ile mutasyon saptanan

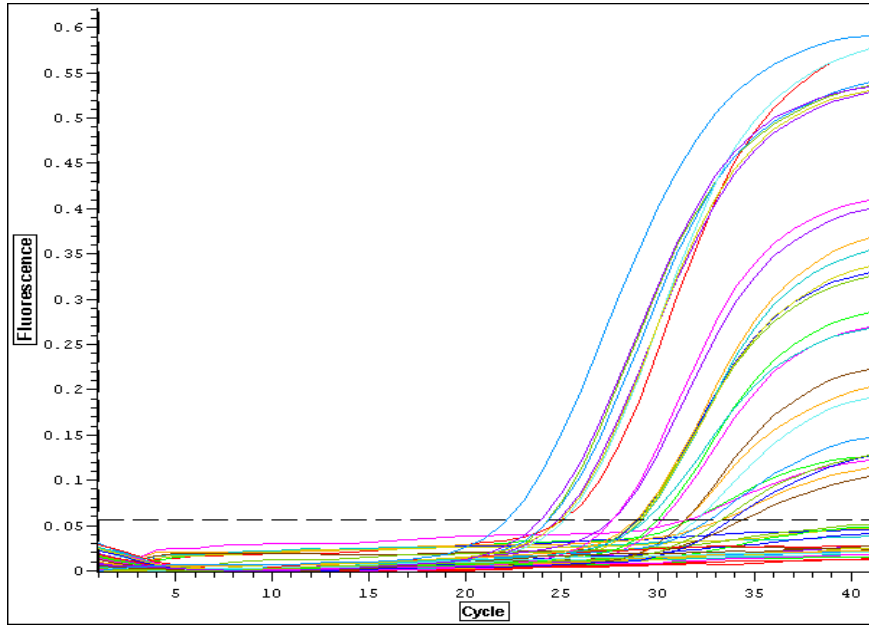
? = Değerlendirme yapılamayan örnek

İstatistiksel analizler; SPSS-15 paket program kullanılarak hesaplamalar yapılmış ve Chi-Square Testi ile karşılaştırmalar yapılmıştır.

Tedavi öncesi ve sonrasında hastaları karşılaştırdığımızda; cinsiyet, yaş, endoskopik bulgular ile tedaviye cevap verip vermemesi, sigara içiminin olup olmaması, mutant gen olması ile cevap oranı arasında istatistiki olarak fark olmadığını gördük. Tedavi öncesi PCR ile mutant bulunan H. Pylori ile tedavi sonrasında histopatolojik olarak pozitif bulunan biyopsi örneklerinin karşılaştırılması Tablo V' te gösterilmiştir.

Tablo- V Tedavi öncesi PCR ile mutant bulunan H. Pylori ile Tedavi sonrası H. Pylori karşılaştırma					
			Tedavi Sonrası Histopatoloji ile H. Pylori		Toplam
			Negatif	Pozitif	
Tedavi öncesi PCR ile mutant bulunan H. pylori	negatif	Sayı	26	16	42
		Tedavi öncesi PCR ile mutant bulunan H. Pylori	61,9%	38,1%	100,0%
	pozitif	Sayı	2	2	4
		Tedavi öncesi PCR ile mutant bulunan H. pylori	50,0%	50,0%	100,0%
		Tedavi Sonrası H. pylori	7,1%	11,1%	8,7%
Toplam		Sayı	28	18	46
			60,9%	39,1%	100,0%

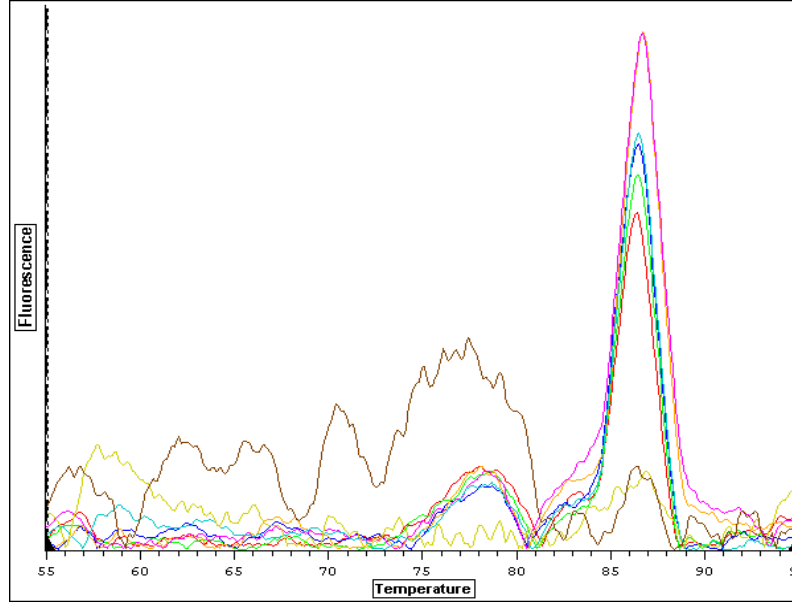
TaqMAN PCR testi kullanılarak yaptığımız analizler sonucu tedavi öncesi alınan biyopsi örneklerinin 46 adedinde (örneklerin tamamı) H.pylori pozitifliği saptadık. Bu örneklerin bir bölümünü gösteren grafik; Şekil-2 olarak sunulmuştur. Aynı testi kullanarak yaptığımız tedavi sonrası biyopsi örneklerinin analizinde ise 26 örneğin hala pozitif olduğunu tespit ettik.



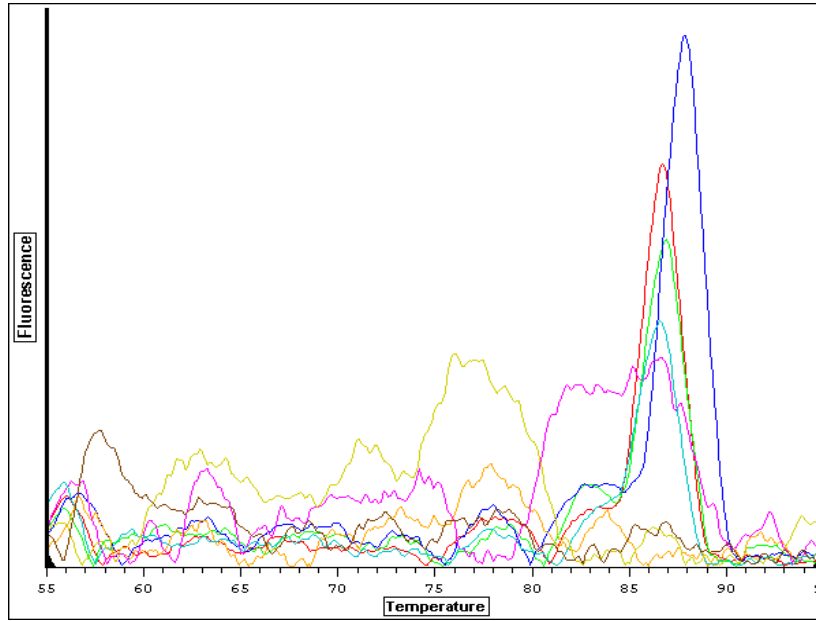
Şekil 2; Pozitif ve negatif örneklere ait TaqMAN real time PCR pikleri.
Kesikli çizginin altındaki pikler negatif örneklere aittir.

SYBR Green I ile Melting Curve Analizi ;

Pratik uygulanabilir bir test geliştirmek amacıyla yaptığımız SYBR Green I ile Melting Curve Analizi çalışmasında tedavi öncesi 4 biyopsi örneğinin primer direnç taşıdığı ve tedavi sonrası ise 4 biyopsi örneğinin sekonder dirence sahip olduğunu tespit ettik. Melting Curve Analizine ait grafik; Şekil-3a ve Şekil-3b 'de açıklanmıştır.



Şekil 3a; H.Pylori pozitif ve direnç taşımayan örneklerle ait 86,2–86,9 °C aralığında bulunan melting curve grafiği



Şekil 3b; H.Pylori pozitif ve direnç taşıyan-taşımayan örneklerle ait 86,5 ve 87,1 °C olan melting curve grafiği. Mavi pik 87,1 °C ve normalden farklı olarak izlenmektedir.

DNA dizi analiz çalışmaları ;

Sense oligonükleotidler kullanarak yaptırdığımız DNA dizi analiz çalışmaları sonucunda tedavi öncesi grupta 39, tedavi sonrası grupta ise 19 H. pylori örneğinin dizi analizleri yapıldı. Diğer örnekler dizi analizi için uygun bulunmadı.

Tedavi öncesi grupta DNA dizi analizi sonucu 6 hastada A2142-2143G(T) ve 5 hastada T2182C primer direnci tespit edildi. (Tablo-VI) Bu primer dirençlerin her ikisini birlikte içeren hasta sayısı ise 2 idi.

Tedavi sonrası grupta ise DNA dizi analizi sonucu 4 hastada A2142-2143G ve 2 hastada T2182C mutasyonları saptadık (Tablo-VII) .

Bu mutasyonların tedavi öncesi primer dirence ait olmadığı ve tedavi esnasında geliştiği tespit edilmiştir (Şekil 4a ve 4b). Tedavi sonrası dirençli bakterilerin A2142-2143G ve T2182C nokta mutasyonlarını aynı anda taşımadığı tespit edildi.

Tablo-VI Tedavi Öncesi Klaritromisin Rezistan H. Pylori Suşları Bulunduran Hastalar

Mutant suşlar		Hasta Sayısı	%
A2142-2143G(T)		6	% 15,3
	İki mutasyon birlikte olan hasta	} 2	
T2182C		5	% 12,8
Toplam mutant hasta sayısı		9	% 28,2

Tablo-VII Tedavi Sonrası Klaritromisin Rezistan H. Pylori Suşları Bulunduran Hastalar

Mutant suşlar	Hasta Sayısı	%
A2142-2143G	4	% 21.0
T2182C	2	% 10.5
Toplam mutant hasta sayısı	6	%31,5

15H-HELKOP1 TEDAVİ ÖNCESİ

CGGAAAAATCCTGGGAGCTGTCTCAACCAAAGATTCAGTGAAATTGTAGT
GGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCCGGCAAGACGGAAAGACCCCGTGGA
CCTTTACTACAACCTTAGCACTGCTAATGGGAATATCATGCGCAGGATAGGT
GGGAGGCTTTGAAGTAAGGGCTTTGGCTCTTATGGAGCCATCCTTGAAAT
ACCACCCTTGATGTTTCTGTTACCTAACTGGCCTGTGTTATCCACAGGCAG
AAAAATGATTAAAAAACTTTGGGGGGGGTTCGGGGGGGGCTCCATG
GGGGCAAAGGCCTTTCCTTAAAGGCCCCCCACCTTTCGGGGGGCTTGATT
TCCCTTAACCGGGGCTAGGTTGTGGCAAGGGTCCAGGGGGTCTTCCGGT
TTGGGGGGGGGTGGGGGGAATTTCCCCCCCACAAAATTTTAACGGAATC
TGGGGTTGAAACGGCCCCCATCGGGTTCGGCCTTTACCGCAGGGGGGT
TTTCACCAAAT

15K HELKOP1 TEDAVİ SONRASI

CACCAGAGATTCAGTGAAATTGTAGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCG
CGGCAAGACGGAAAGACCCCGTGACCTTTACTACAACCTTAGCACTGCTA
ACGGGAATATCATGCGCAGGATAGGTGGGAGGCTTTGAAGTAAGGGCTTT
GGCTCTTATGGAGCCATCCTTGAGATACCACCCTTGATGTTTCTGTTAGCT
AACTGGCCTGTGTTATCCACAGGCAGGACAATGCA

Şekil 4a; Tedavi öncesi 2182. pozisyonundaki T yerine tedavi sonrası nokta mutasyon ile C nükleotidi geçmiştir.

17H-HELKOP1 TEDAVİ ÖNCESİ

GGGCTGAGAGGGAGCTGTCTCACCAGAGATTCAGTGAAATTGTAGTGGA
GGTGAAAATTCCTCCTACCCGCGGCAAGACGGAAAGACCCCGTGACCT
TTACTACAACCTTAGCACTGCTAATGGGAATATCATGCGCAGGATAGGTGG
GAGGCTTTGAAATAAGGGCTTTGGCTCTTATGGAGCCATCCTTGAAATACC
ACCCTTGATGTTTCTGTTAGCTAACTGGCCTGTGTTATCCACAGGCAGAAC
AATGCTAAAACAAACATAAGGGGGGGGGTTCGGGGGGGGGCTATAAG
AGCCAAAGCCTTTTTTTAAAGGCCCCCCACCTATCCGGGGCATGATATTC
CCATTAGCAGTGCTAGGTTGAGGTAAGGGTCCAC

17K-HELKOP1 TEDAVİ SONRASI

CCAGAGATTCAGTGAAATTGTAGTGGAGGTGAAAATTCCTCCTACCCGCG
GCAAGACGGAAAGACCCCGTGACCTTTACTACAACCTTAGCACTGCTAAT
GGGAATATCATGCGCAGGATAGGTGGGAGGCTTTGAAGTAAGGGCTTTG
GCTCTTATGGAGTCATCCTTGAGATACCACCCTTGATGTTTCTGTTAGCTA
ACTGGCCTGTGTTATCCACAGGCAGGACAATGCAAA

Şekil 4b; Tedavi öncesi 2142. pozisyonundaki A yerine tedavi sonrası nokta mutasyon ile G nükleotidi geçmiştir.

Hastaları; endoskopi ile gastrit saptananlar ve diğerleri olarak ayırdığımızda tedavi öncesi ve sonrası mutant H. pylori ile tanı arasındaki ilişki Tablo-VIII ve Tablo-IX’ da gösterilmiştir. Gastritli vakalarda mutant H. pylori fazla gibi görülse de diğerleri ile aralarındaki fark istatistikî olarak anlamlı değildi (p=0.542).

Tablo- VIII Tedavi öncesi sekans ile mutant H. Pylori (+) ile tanı arasındaki ilişki

			gastrit	diğer	Toplam
Tedavi öncesi sekans ile mutant H. Pylori (+)	Saptanmayan	Sayı	24	6	30
		%	75,0%	85,7%	76,9%
	Saptanan	Sayı	8	1	9
		%	25,0%	14,3%	23,1%

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	,371	1	,542
Continuity Correction	,013	1	,909
Likelihood Ratio	,405	1	,525

Tablo- IX Tedavi sonrası sekans ile mutant H. Pylori (+) ile tanı arasındaki ilişki

			gastrit	diğer	Toplam
Tedavi sonrası sekans ile mutant H. Pylori (+)	Saptanmayan	Sayı	13	0	13
		%	70,6%	,0%	63,2%
	Saptanan	Sayı	4	2	6
		%	29,4%	100,0%	36,8%
Toplam		Sayı	17	2	19
		%	100,0%	100,0%	100,0%

Chi-Square Tests			
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3,832	1	,050
Continuity Correction(a)	1,399	1	,237
Likelihood Ratio	4,411	1	,036

VI-TARTIŞMA

H. pylori eradikasyon tedavisinin birinci basamağında PPI, amoksisilin ve klaritromisinden oluşan üçlü tedavi kullanılır. Maastricht 3–2005 konsensus raporunda önerildiği şekilde H. pylori enfeksiyonu için en son önerilen tedavi metodunda klaritromisin anahtar rol oynamaktadır. Ancak bu ilaca olan rezistanstan dolayı başarılı bir eradikasyon tam olarak yapılamamaktadır.

Her toplumun klaritromisine karşı H. pylori rezistansını bilmek tedavide seçilecek ilaçlar açısından çok önemlidir. Bazı hastalar tedavi öncesinde klaritromisin dirençli suçlara sahip iken bazı klaritromisin duyarlı hastalarda da tedavi sırasında klaritromisin dirençli suçlar oluşmaktadır (86).

Klaritromisin rezistansı ABD’ de %5–10, Avrupa’da %1–18 ve Türkiye’de yapılan farklı çalışmalara göre %11,4 ile %56 arasında bulunmuştur (50, 86).

Klaritromisin rezistansının bu kadar yüksek olması nedeni ile H. pylori eradikasyonu yapılacağı zaman ilaç seçiminde dikkatli olunmalıdır. Özellikle klaritromisin rezistansının yüksek olduğu ülkelerde H. pyloriye karşı yapılacak antibiyotik duyarlılık testleri önem taşımaktadır.

Histopatoloji; H. pylori enfeksiyonu tanısı için sensitif, hızlı ve kolay uygulanabilen bir yöntemdir. Ancak tespit edilen patojenin rezistansı hakkında bilgi vermemektedir.

H. pylori kültürü; antimikrobiyal duyarlılığını saptamak için kullanılabilir, ancak uygulama zorluklarından dolayı rutin olarak laboratuvarlarda kullanılabilen bir yöntem değildir.

FISH yöntemi ise taşıma şartlarından etkilenmeyen, mikroorganizmanın canlılığına bağlı olmayan daha sensitif olan bir yöntemdir. Rüssman ve ark. ları kültür ile %82,7 H. pylori saptadıkları hastalarda FISH metodu ile % 94,4 bulmuşlardır (85).

Hu CT ve ark. larının Tayvan’ da yaptıkları 133 hastayı kapsayan bir çalışmada H. pyloriye karşı %51,9 metronidazol, %13,5 klaritromisin ve %36,1 amoksisillin direnci bulmuşlardır. Metranidazole direnci kadın hastalarda (49/78) %62,8 iken erkeklerde (20/55) %36,4 imiş. %33,8’de en az iki antimikrobiyal ajana karşı rezistans bulunmuştur. Ve en çok rezistans metranidazol ile amoksisilin arasında tespit edilmiş. (%18,1) (87).

Aydin A. ve ark. larının H. pylori pozitif dispeptik yakınmaları olan 80 hasta ile yaptıkları çalışmada; PPI + Klaritromisin+Amoksisilin tedavisini bir hafta alan 40 hastada klaritromisin rezistansı %44,1, iki hafta alan diğer 40 hastada ise %58,8 olarak bulmuşlardır. Bir hafta tedavi olan grupta 16 (%40) hastada, iki haftalık tedavi alan grupta ise 25 (%62.5) hastada eradikasyon sağlanmıştı. Birinci grupta klaritromisin-rezistan hastaların 15'in 4'ünde (PP: 26,7%, ITT: 26,7%) H. pylori eradike edilirken, ikinci grupta ise klaritromisin-rezistan 20 hastanın 12'sinde (PP:60%, ITT:60%) eradikasyon sağlanmıştı. Birinci grupta klaritromisin-sensitif olan 19 hastanın 12'sinde (PP: 63,2%, ITT: 57,1%), ikinci grupta ise 14 hastanın 13'ünde eradikasyon sağlanmıştı. (PP: 92,8%, ITT: 76,5%) ($p>0.05$) (88).

Tüzün Y. ve ark. larının Diyarbakır yöresinde yaptığı çalışmada; daha önce hiç H. pylori için tedavi almamış, H. pylori pozitif olan 142 hastanın 61'inde (% 43) kültürde H. pylori saptamışlar. E test ile hastaların %16,4'sının klaritromisine karşı primer rezistan olduğu bulunmuş. Üçlü tedavi verildikten 8 hafta sonra hastaların %68,8'inde eradikasyon sağlanmış. Klaritromisin sensitif olanların %75,8'inde, rezistan olanların ise %10'unda eradikasyon gözlenmiş. H. pylori pozitif olan grupta sekonder rezistans oranı ise %27,2 bulmuşlar (89).

Thai'de Mahachai ve ark. larının 470 hastayı kapsayan çalışmalarında Üre Nefes Testi ile H. pylori pozitif saptanan 282 (%69,0) hastanın 113'üne (%54,6) H.pylori kültürü yapılmış. Bu hastaların 69'una klaritromisin duyarlılığı için E test yapılmış ve H. pyloriye primer klaritromisin rezistansı 16 hastada (%23,2) saptanmış. H. pyloriye klaritromisin sensitif hastalarda eradikasyon oranı %90,6 (48/53) bulunurken klaritromisin rezistan olanlarda %56,3 (9/16) bulunmuş ($p = 0.002$) (90).

Gu Q, Xia HH ve ark. larının Hong Kong'da yaptıkları çalışmada dispeptik yakınmaları olan 234 hasta çalışmaya alınmış. 124 hastada H. pylori pozitif saptanmış ve bunların 102'sine kültür yapılmış ve kültür sonucunda klaritromisin, amoksisillin ve metronidazole resistans oranları sırası ile %7,8, %0 and %39,2 bulunmuş. Günde 2 kez rabeprazole 20 mg,

klaritromisin 500 mg ve amoksisillin 1000 mg, bir hafta boyunca verilen 81 hasta takibi tamamlamış ve yeniden kontrol testleri yapılmış. Eradikasyon oranları per-protocol ve intention-to-treat analysise göre %92,6 ve %87,2 bulunmuş. Eradikasyon oranı klaritromisin-duyarlı suşu olan hastalarda rezistan olanlara göre oldukça yüksek bulunmuş (%98,6'e karşılık %28,6, $p<0.001$) (91).

Klaritromisin rezistansı, *H. pylori* bakteriyel 23S rRNA gen bölgesindeki nokta mutasyonları ile ilgilidir. En sık görülen mutasyonlar A2142G, A2143G, A2144G, C2182T ve az miktarda A2143C mutasyonlarıdır (92). Diğer nadir görülen mutasyonlar ise G2141A, A2143T, T2183C, T2245C, A2144T ve T2717C' dir. Mutasyonların dağılımı bölgesel farklılıklar gösterir.

Chen S ve ark. larının yaptığı çalışmada; tedavi öncesi PCR tekniği ile 54 hastanın %11.11'inde A2143G mutasyonu, %12.96'sında C2182T mutasyonu bulunmuştu ve bu mutasyonlar DNA sekans analizi ile doğrulanmıştı (92).

Bağlan ve ark. larının; 65 fonksiyonel dispepsili, 22 duodenal ülserli toplam 87 hastayı içeren yaptıkları çalışmada, hastaların 24 (%27,6) ünde A2143G ve A2144G nokta mutasyonunu içeren klaritromisin rezistansı bulmuşlar (93).

Vincenzo ve ark. larının İtalya'da yaptıkları çalışmada 1989–90 yılları arasında klaritromisin direnci olan 15 hastanın 11' inde (%73,3), 2004–2005 yılları arasında ise 38 hastanın 27'sinde (%71)'inde A2143G nokta mutasyonu saptamışlar (67).

Vincenzo ve ark. larının yaptığı başka bir çalışmada *H. pylori* pozitif olan 75 hastaya 7 günlük PPI, amoksisilin ve klaritromisin tedavisi verilmiş. Daha sonra yapılan incelemede klaritromisin direncine neden olan A2143G mutasyonu olan 23 hastanın 11' inde (%48) ve A2142G veya A2142C mutasyonu olan 15 hastanın 14'ünde (%93) eradikasyon sağlanmıştır (94) .

Hao Q ve ark. larının 30 hastada yaptıkları *H. pylori* rezistans çalışmasında 7 hastada (% 23,3) klaritromisin rezistansı saptanmıştı. Klaritromisine rezistan olan *H. pylori* izolatlarında PCR ile yapılan sekans

analizleri sonucunda G2224A, C2245T ve T2289C nokta mutasyonları bulunmuş (95).

Şili'de Garrido L. ve ark. larının yaptığı, daha önce hiç klaritromisin kullanmamış 50 hastayı kapsayan çalışmada, agar antibiyotik dilusyon metodu ile 10 hastada (%20) primer rezistans saptamışlar. 10 hastanın dördü tek nokta mutasyonu diğer altı hastada ise iki veya daha fazla mutasyona sahip imiş. 9 hastada A2142G mutasyonu, 1 hastada ise A2143G mutasyonu saptanmış. Saptanan diğer mutasyonlar C2147G, G1939A, T1942C ve A2142G imiş. Nükleotid sekanslarında simultane olarak aynı mutasyonlar saptanmamış. Bu yüzden klaritromisin rezistan *H. pylori*yi PCR ile belirleyebilmek için daha fazla enzimle çalışılması gerektiğini bildirmişler (96).

Alfaresi MS ve ark. larının Birleşik Arap Emirliklerinde yaptıkları çalışmada 91 dispepsili hastadan alınan biyopsi örneklerinin 55' inde real-time PCR ile *H. pylori* varlığını göstermişler. 36 örnekten 26 tanesinde A2142/43G mutasyonu, bir tanesinde A2142G mutasyonu, dokuzunda ise her iki mutasyonu birlikte saptamışlar (97).

Chisholm ve ark. larının yaptığı çalışmada dispeptik yakınmaları olan 171 hastadan alınan gastrik biyopsi örneklerinde kültür ile 71'inde *H. pylori* tespit edilmişti. Bu hastaların 70'inde PCR ile *H. pylori* pozitif bulunmuş. Kültür ile negatif olan 100 hastanın 29'unda daha PCR ile *H. pylori* pozitif bulunmuş. Kültür ile *H. pylori* pozitif bulunan 71 hastanın 51'inde (%71,8) klaritromisin rezistansı saptanmış. Kültürde pozitif saptanan hastalardan 32 tanesi PCR ile yeniden değerlendirildiğinde bunların da %72'si klaritromisin rezistan bulunmuştu ve klaritromisin rezistansı saptanan 28 hastanın 21'inde (%75) 23S rRNA geninde mutasyon bulunmuş (98).

Francesco ve ark. larının yaptığı çalışmada ise *H. pylori* pozitif saptanan ve A2143G mutasyonu olan 75 hastanın % 48'inde eradikasyon sağlanmış.

Bizim yaptığımız çalışmada; tedavi öncesi DNA dizi analizi yapılabilen 39 hastadan; 6 hastada A2142-2143G(T) (%15,3) ve 5 hastada T2182C

(%12,8) primer direnç tespit ettik. Bu primer dirençlerin her ikisini birlikte içeren hasta sayısı ise 2 idi (%5,12). Toplam mutant gen oranını % 28,2 olarak bulduk. Bu oran Şili’de Garrido ve ark. larının bulduğu rezistans oranına (%20) yakındı. Tedavi öncesi primer direnç olduğunu tespit ettiğimiz 9 hastanın tedavi sonrası 3’ünde H. pylorinin eradike olmadığını, 6’sında ise eradike olduğunu saptadık. Bizim hastalarımızda primer direnç oranını %33,34 olarak tespit ettik.

Tedavi sonrası DNA dizi analizi yapılabilen 19 hastadan ise 4 hastada (%8,69) A2142-2143G ve 2 hastada (%4,3) T2182C mutasyonları saptadık. Bu mutasyonların tedavi öncesi primer dirence ait olmadığı ve tedavi esnasında geliştiği tespit edildi. Tedavi sonrası dirençli bakterilerin A2142-2143G ve T2182C nokta mutasyonlarını aynı anda taşımadığı tespit edildi. Bizim bulduğumuz mutant gen oranları; Chen ve ark. larının Çin’de yaptıkları çalışmanın sonuçlarına yakın idi (92).

Sekonder direnç tespit ettiğimiz 6 hastanın tedavi sonrasında 4’ünde histopatolojik olarak H. pylori eradikasyonunun olmadığı, 2 tanesinde eradike olduğunu tespit ettik. Sekonder dirençli hastalarda %33,34 eradikasyon tespit ettik.

Mahachai ve ark. larının 470 hastayı kapsayan çalışmalarında H. pylorinin klaritromisin sensitif hastalarda eradikasyon oranı %90,6 bulunurken klaritromisin rezistan olanlarda %56,3 bulunmuş (90).

Vincenzo ve ark. larının yaptığı çalışmada klaritromisin direncine neden olan A2143G mutasyonu olan 23 hastanın 11’ inde (%48) ve A2142G veya A2142C mutasyonu olan 15 hastanın 14’ünde (%93) eradikasyon sağlanmıştı (94).

Çalışmamızdaki 46 hastanın tedavi sonrası kontrollerinde histopatolojik olarak 18 hastada (%39,1) H. pylori enfeksiyonunun devam ettiği gözlenirken PCR ile yapılan kontrollerde ise 26 hastada (%56,5) H. pylori varlığını saptadık. Bu hastaların 6’sında DNA Sekans Analizi ile klaritromisin rezistan H. pyloride nokta mutasyonları saptandı.

Tedavi sonrası yapılan testlerde cevap oranlarının farklı olması; H. pylorinin midede yama tarzında yerleşmiş olmasından dolayı alınan

biyopsi örneklerinin farklılıklarından kaynaklanmış olabilir. Optimal şartlar altında histopatolojik incelemenin sensitivitesi % 95' tir ve alınan biyopsi örneğinin kalitesine ve patoloğun tecrübesine bağlıdır (3).

Chen S ve ark. larının yaptığı çalışmada 54 hastanın hepsinde PCR ile H. pylori pozitif saptanmışken histopatolojik incelemede 2/3'ünde pozitif bulunmuş. Sonuçların farklı olması biyopsi örneklerinin pozisyon değişikliğinden kaynaklanabileceği şeklinde vurgulanmıştır (91).

Versalovic ve ark. larının yaptığı çalışmada klaritromisin rezistan 59 H. pylori izolatının 54'ünde PCR ile A2143G ve A2144G mutasyonu tespit etmişler. PCR ile A2143G mutant gen saptanan 31 hastanın 26'sında E test ile yapılan antibiyotik duyarlılık testinde MIC değeri belirlenen değerin üzerinde çıkmış iken sınırın altında kaldığından dolayı rezistans olmayacağı düşünülen 5 hastada PCR ile mutasyon saptanmamış (80).

Melting Curve Analizine göre tedavi öncesi PCR ile rezistans olduğu bulunan 4 hastanın 2'sinde tedavi sonrası histopatoloji ile H. pylori (+) bulunmuş iken, tedavi sonrası PCR ile rezistans olduğu bulunan 4 hastanın 4'ünde de histopatoloji ile H. pylori (+) idi.

DNA sekans analiz çalışmaları ile tedavi öncesi mutant olduğu saptanan 9 hastanın 3'ünde tedavi sonrası histopatolojik olarak H. pylori (+) devam ederken, tedavi sonrası mutant gen tespit edilen 6 hastanın 4'ünde tedavi sonrası H. pylori (+) devam ediyordu.

Bu sonuçlara göre klaritromisin bazlı tedaviye cevap vermeyen hastalarda; tedavi öncesi PCR ile rezistans tespit edilen 4 hastanın 2'si histopatolojiye göre tedaviye cevap vermemiş iken, DNA sekans analizi ile 9 hastanın 3'ü cevap vermemişti. Aralarındaki fark istatistiki olarak anlamlı değildi. (p=0,50)

Ancak tedavi öncesi grupta her iki yöntem ile iki mutant gen saptanan bir hasta tespit edilmiş iken tedavi sonrası grupta ise bir hasta tespit edilmiştir.

Masaoka ve ark. larının klaritromisin direnci ve mutant gen analizi için yaptıkları çalışmada; agar dilüsyon metodu ile rezistans saptanmayan bir hastada PCR ile A2144G nokta mutasyonu bulmuşlar. Ayrıca agar dilüsyon metodu ile 2 hastada rezistans saptanmış iken PCR'da bunları saptamamışlar. Yine Masaoka ve ark. larının mutasyon saptadıkları 29

hastanın 28'i A2144G, birisi A2143G mutasyonu içeriyordu. Mutant olmayan iki hasta LAC rejimine rağmen eradikasyon sağlanmamıştı. Bizim hastalardan da PCR ve DNA sekans analizi ile mutasyon saptanmadığı histopatolojik olarak yapılan değerlendirmede tedaviden yanıt alamadığımız 7 hasta vardı.

Bütün bu çalışmaların sonucuna baktığımızda; klaritromisin rezistansını ve duyarlılığını hangi yöntemle belirlemeye çalışırsak çalışalım, H. pylori pozitif tespit edilen hastalara birinci basamak tedavi olarak klaritromisin bazlı üçlü tedavi verildiğinde, rezistan olabileceği düşünülen hastaların bir kısmı eradike olurken, duyarlı olacağı düşünülen hastaların bir kısmında ise eradikasyon sağlanamamaktadır.(85, 88, 89, 90, 91, 94, 96)

Bu da göstermektedir ki klaritromisin direnç belirleme yöntemlerinde hala bazı sorunlar bulunmaktadır.

Sonuç olarak biz de klaritromisin rezistansını, tedavi öncesi belirleyebilmek için tek başına PCR temelli Melting Curve Analizi ile çalışmanın doğru sonuç vermeyebileceğini gösterdik. Bu nedenle şu anda klaritromisin direncinin moleküler yöntemlerle belirlenmesinde; tek başına Melting Curve Analiz testlerinin kullanımı yerine DNA dizi analizi gibi bir yöntemle kombinasyona ihtiyaç olduğunu tespit ettik.

Mevcut çalışmalar ışığında mikrobiyoloji laboratuvarında klaritromisin direnci için Melting Curve Analiz metodu biraz daha geliştirilir ise klinik pratikte hasta tedavi ve takibinde büyük yarar sağlayacağını düşünmekteyiz.

IX- KAYNAKLAR

1. Cave, DR., Transmission and epidemiology of *Helicobacter pylori*. Am J Med., 1996;100: 12-7.
2. Wyle, FA., *Helicobacter pylori*: Current perspectives. J Clin Gastroenterol., 1991;13:114-24.
3. Megraud, F., Lehours, P., H. Pylori Detection and Antimicrobial Susceptibility Testing. Clin. Mic. Reviews., Apr.2007, p.280-322.
4. Dunn, BE., Cohen, H., Blaser, MJ., *Helicobacter pylori*. Clin Microbiol Rev., 1997;10:720- 41.
5. Marshall, BJ., Warren, JR., Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet., 1983;1:1273-5.
6. Suerbaum, S., Michetti, P., *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med., 2002; 347:1175- 86.
7. Parsonnet, J., Shmueli, H., Haggerty, T., Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. JAMA., 1999;282:2240-5.
8. Graham, DY., *Helicobacter pylori* infection in the pathogenesis of duodenal ulcer and gastric cancer: a model. Gastroenterology., 1997; 113: 1983-91.
9. Rowland, M., Drumm, B., Clinical significance of *Helicobacter pylori* infection in children. Br Med Bull., 1998;54:95-103.
10. Breuer, T., Malaty, HM., Graham, DY., The epidemiology of H Pylori-associated gastroduodenal diseases., 1997; pp 1-14.
11. Ertem, D., Harmancı, H., Pehlivanoğlu, E., *Helicobacter pylori* infection in Turkish preschool and school children: role of socioeconomic factors and breast feeding. The Turkish Journal of Pediatrics., 2003; 45: 114-122

12. Sokucu, S., Suoğlu, OD., Turkkan, E., Elkabes, B., Ozden, T., Saner, G., *Helicobacter pylori* infection in Turkish children with gastrointestinal symptoms and evaluation of serology. Turk J Pediatr., 2002; 44 :102-8.
13. Tuncer, M., *Helicobacter pylori*. Güncel Durum Aktüel Tıp Dergisi., 2004;9: 25-8.
14. Cammarota, G., Tursi, A., Montalto, M., Papa, A., Veneto, G., Bernadi, S., Boari, A., Colizzi, V., Fedeli, G., Gasbarrini, G., Role of dental plaque in the transmission of *Helicobacter pylori* infection. J Clin Gastroenterol., 1996;22:174-7.
15. Ma, JL., You, WC., Gail, MH., Zhang, L., Blot, WJ., Chang, YS., Jiang, J., Liu, WD., Hu, YR., Brown, LM., Xu, GW., Fraumeni, JF., *Helicobacter pylori* infection and mode of transmission in a population at high risk of stomach cancer. Int J Epidemiol., 1998;27:570-3.
16. Graham, DY., Shiotani, A., New concepts of resistance in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. Nature Clin. Prac. Gastroent.-Hepat., 2008; (5), 6 321-331
17. Scott, DR., Weeks, D., Hong, C., Postius, S., Melchers, K., Sachs, G., The role on internal ureas in acid resistance of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology., 1998;114:58-70.
18. Nazlıgül, Y., Uzunkoy, A., Ozardalı, Hİ., Bitiren, M., Is the local acid output an important factor for *Helicobacter pylori* colonization? Hepato Gastroenterol., 2001; 48:1192-4.
19. Özden, A., *Helicobacter Pylori* 2006., Güncel Gastroenteroloji., Aralık 2006
20. Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C., et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht-2 2000 Consensus Report. Aliment Phaomacol Ther., 2002; 16: 167-80.

21. Malfertheiner, P, Megraud, F., O'Morain, C., Guidelines for the Management of Helicobacter pylori infection. Maastricht-3 2005 Consensus Report. Business Briefing: European Gastroenterology Review 2005.
22. Solnick, JV., Franceschi, F., Roccarina, D., Gasbarrini, A., Extragastric Manifestations Helicobacter pylori infection - Other. Helicobacter Species., Helicobacter 2006; 11 (Suppl.1): 46-51.
23. McColl, K. E., Murray, L. S., Gillen, D., Walker, A., Wirz, A., Fletcher, J., Mowat, C., Henry, E., Kelman, A., and Dickson, A., Randomised trial of endoscopy with testing for Helicobacter pylori compared with non-invasive H. pylori testing alone in the management of dyspepsia. Br. Med. J. 2002., 324: 999–1002.
24. Lassen, A. T., Pedersen, F. M., Bytzer, P., and De Muckadell, O. B. S., Helicobacter pylori test-and-eradicate versus prompt endoscopy for management of dyspeptic patients: a randomised trial. Lancet., 2000; 356: 455–460.
25. Moayyedi, P., Soo, S., Deeks, J., et al. Eradication of Helicobacter pylori for non-ulcer dyspepsia. Cochrane Database Syst Rev 2006; CD002096.
26. Di Mario, F., Stefani, N., Bo ND, et al. Natural course of functional dyspepsia after Helicobacter pylori eradication: a seven year survey. Dig Dis Sci 2005; 50: 2286–95.
27. Mazzoleni, LE., Sander, GB., Ott, EA., et al. Clinical outcomes of eradication of Helicobacter pylori in nonulcer dyspepsia in a population with a high prevalence of infection: results of a 12-month randomized, double blind, placebo-controlled study. Dig Dis Sci 2006; 51: 89–98.
28. Budnik, TM., Laszewicz, W., Lamarque, D., Chaussade, S., Helicobacter pylori and Non- Malignant Diseases. Helicobacter 2006; 11 (Suppl.1): 27–31.

29. Ho, KY., Chan, YH., Kang, JY., Increasing trend of reflux esophagitis and decreasing trend of *Helicobacter pylori* infection in patients from a multiethnic Asian country. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1923–8.
30. Kawanishi, M. Development of reflux esophagitis following *Helicobacter pylori* eradication. *J Gastroenterol* 2005; 40: 1024–8.
31. Ott, EA., Mazzoleni, LE., Edelweiss, MI., et al. *Helicobacter pylori* eradication does not cause reflux oesophagitis in functional dyspeptic patients: a randomized, investigator-blinded, placebo controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther.*, 2005; 21: 1231-9.
32. Tsukada, K., Miyazaki, T., Katoh, H., et al. The incidence of reflux oesophagitis after eradication therapy for *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*, 2005; 17: 1025-8.
33. Ramsoekh, D., van Leerdam, ME., Rauws, EA., Tytgat GN. Outcome of peptic ulcer bleeding, nonsteroidal anti-inflammatory drug use, and *Helicobacter pylori* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol.*, 2005; 3: 859-64.
34. Yeomans, ND., Lanas, AI., Talley, NJ., et al. Prevalence and incidence of gastroduodenal ulcers during treatment with vascular protective doses of aspirin. *Aliment Pharmacol Ther.*, 2005; 22: 795-801.
35. Lai, KC. Chu, KM., Hui, WM., et al. Celecoxib compared with lansoprazole and naproxen to prevent gastrointestinal ulcer complications. *Am J Med.*, 2005;118: 1271-8.
36. Schaefferbeke T, Broutet N, Zerbib F, et al. Should we eradicate *Helicobacter pylori* before prescribing an NSAID? Result of a placebo-controlled study. *Am J Gastroenterol.* 2005; 100: 2637–43.
37. Gasbarrini, A., Franceschi, F., Tartaglione, R., et al. Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet.*, 1998; 352: 878.

38. Fujimura, K., Kuwana, M., Kurata, Y., et al. Is eradication therapy useful as the first line of treatment in *Helicobacter pylori*-positive idiopathic thrombocytopenic purpura? Analysis of eradicated chronic ITP cases in Japan. *Int J Hematol.*, 2005; 81: 162-8.
39. DuBois, S., Kearney, DJ., Iron-deficiency anemia and *Helicobacter pylori* infection: a review of the evidence. *Am J Gastroenterol.*, 2005; 100: 453-9.
40. Franceschi, F., Leo, D., Fini L., et al. *Helicobacter pylori* infection and ischaemic heart disease: an overview of the general literature. *Dig Liver Dis.*, 2005; 37: 301
41. Maurer, KJ., Ihrig, MM., Rogers, AB., et al. Identification of cholelithogenic enterohepatic *Helicobacter* species and their role in murine cholesterol gallstone formation. *Gastroenterology.*, 2005; 128: 1023-33.
42. Ikeno, T., Ota, H., Sugiyama, A., Ishida, K., Katsuyama, T., Genta, RM., Sawasaki, S., *Helicobacter pylori*-Induced Chronic Active Gastritis, Intestinal Metaplasia, and Gastric Ulcer in Mongolian Gerbils. *Am. Jour. Of Pathology.*, 1999;154 (3): 951-960
43. Hachem, CY., Clarridge, JE., Evans, DG., Graham, DY., Comparison of agar based media for primary isolation of *Helicobacter pylori*. *J Clin Pathol.*, 1995;48:714-6.
44. Laine, L., Estrada, R., Lewin, DN., Cohen, H., The influence of warming on rapid ureases test results: a prospective evaluation. *Gastrointest Endosc.*, 1996;44:429-32.
45. Furuta, T., Kaneko, E., Suzuki, M., Arai, H., Futami, H., Quantitative study of *Helicobacter pylori* in gastric mucus by competitive PCR using DNA fragments. *J Clin Microbiol.*, 1996;34:2421-5.
46. Borody, TJ., Andrews, P., Shortis, NP. Evaluation of whole blood antibody kit to detect active *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol.*, 1996;91:2509-12.

47. Eppe, HJ., Kirstein, FW., Bojarski, C., Frege, J., Fromm, M., Riecken, EO., Schulzke, JD., 13C urea breath test in *Helicobacter pylori* diagnosis and eradication. *Scand J of Gastroenterol.*, 1997;32: 308-14.
48. Broutet, N., Tchamgoue, S., Pereira, E., Lamouliatte, H., Salamon, R., Megraud, F., Risk factors for failure of *Helicobacter pylori* therapy—results of an individual data analysis of 2751 patients. *Aliment Pharmacol Ther.*, 2003;17:99-109.
49. Uygun, A., Kadayifci, A., Yeşilova, Z., et al. Recent success of pantoprazole or lansoprazole based clarithromycin plus amoxicillin treatment in the eradication of *Helicobacter pylori*. *Turk J Gastroenterol.*, 2004., 15 (4): 219-24.
- 50-Güncel *Helicobacter Pylori* El Kitabı., Ed:Prof.Dr. İlkay Şimşek, 2007
51. Özçay, F., Koçak, N., Temizel, I.N.S., Demir, H., Özen, H., Yüce, A., ve Gürakan, F., *Helicobacter pylori* Infection in Turkish Children: Comparison of Diagnostic Tests, Evaluation of Eradication Rate, and Changes in Symptoms after Eradication. *Helicobacter.* 2004; 9, 3 : 242–248
52. Cavallaro, LG., Egan, B., O’Morain, C., Di Mario, F., Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2006; 11 (Suppl.1): 36-9.
53. Altıntaş, E., Sezgin, O., Ulu, O., et al. Maastricht II treatment scheme and efficacy of different proton pumps inhibitör in eradication *Helicobacter pylori*. *Gastroentero.*, 2004; 10 (11): 1656-8.
54. Antos, D., Schneider-Brachert, W., Bastlein, E., et al. 7-Day triple therapy of *Helicobacter pylori* infection with levofloxacin, amoxicillin, and high-dose esomeprazole in patients with known antimicrobial sensitivity. *Helicobacter.* 2006; 11: 39–46.
55. Dore, MP., Maragkodakis, E., Pironti, A., et al. Twice-a-day quadruple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* in the elderly. *Helicobacter.* 2006; 11: 52–5.

56. Scaccianoce G, Hassan C, Panarese A, et al. Helicobacter pylori eradication with either 7-day or 10-day triple therapy therapies, and with 10-day sequential regimen. Can J Gastroenterol 2006; 20(2):113–7
57. Uygun, A., Yeşilova, Z., Erdil, A., et al. Helicobacter pylori pozitif non-ülser dispepsili hastalara da, ardışık tedavi 1'ci basamakta kullanılmalı mıdır? 22. UGH SB1/10. 2005.
58. Di Mario, F., Aragona, G., Dal Bo N, et al. on the behalf of the Gastrointestinal Study Group (GISU). Bovine lactoferrin for the Helicobacter pylori eradication: an open, randomized, multicentre study. Aliment Pharmacol Ther., 2006; 230 1235-40.
59. Zullo, A., De Francesco, V., Scaccianoce, G., et al. Quadruple therapy with lactoferrin for Helicobacter pylori eradication: a randomised, multicentre study. Dig Liver Dis., 2005; 37: 496-500.
60. Dzieniszewski, J., Jarosz, M.,; Guidelines in the medical treatment of Helicobacter pylori İnfection; Jour. Of Phys. And Pharm., 2006, 57, supp 3, 143-154)
61. Tompkins, D.S., Perkin, J., Smith, Carole; Failed Treatment of Helicobacter pylori İnfection Associated with Resistance to Clarithromycin, Helicobacter 2, 1997, 4:185-187
62. Peri, F., Villani, M.R., Festa, V., Quitadamo, M., Andriulli, A. Predictors of failure of Helicobacter pylori eradication with the Standard 'Maastricht triple therapy. Aliment. Pharm. Ther 2001; 15: 1023–1029
63. Sung, H., Chung, HJ., Kim, MN., Lee, GH. Clinical Usefulness of Antimicrobial Susceptibility Test for Helicobacter pylori. Korean J Lab Med., 2006; 26:179-184
64. Vakil, N., Hahn, B., McSorley, D.; Clarithromycin-Resistant Helicobacter Pylori in Patient With Duodenal Ulcer in the United States; The Am. Jour. Of Gastroenterology., 1998;93:1432-1435

65. Brian, MJ., Thomas, WH., Bensler, JM., Bruden, DL., Parkinson, A.J, Morris, JM, The Relationship among Previous Antimicrobial Use, Antimicrobial Resistance, and Treatment Outcomes for *Helicobacter pylori* Infections. *Ann Intern Med.* 2003;139: 463–469
66. Toracchio, S., Marzio, L., Primary and secondary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* strains isolated in central Italy during the years 1998-2002. *Digestive and Liver Disease.*, 35; (2003) 541-545)
67. Vincenzo, DF., Margiotta, M., Zullo, A., Hassan, C., Giorgio, F., Burattini, O, Stoppino, G, Cea, U, Prevalence of primary clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* strains over a 15 year period in Italy, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (2007) 59, 783–785
68. Boyanova, L., Gergova, G., Nikolov, R., Davidkov, L., Kamburov, V., Jeleu, C., Mitov, I., Prevalence and evolution of *Helicobacter pylori* resistance to 6 antibacterial agents over 12 years and correlation between susceptibility testing methods, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; 60 (2008), 409–415
69. Janssen, M.J.R., Hendrikse, L., Boer, S.Y., Bosboom, R., Boer W.A., R.J.F., Jansen J.B.M.J. *Helicobacter pylori* antibiotic resistance in a Dutch region: trends over time. *The Netherlands Jour.of Med* 2006., Vol. 64, No.6;191–195
70. Megraud, F., H. Pylori Antibiotic Resistance: Prevalence, importance, and advanced in testing *Gut.*, 2004;53:1374-1384
71. Boyanova, L., Mentis, A., Gubina, M., Rozynek, E., Gosciniak, G., Kalenic, S., Göral V., L. Kupcinkas, B. Kantarçeken, A. Aydin, A. Archimandritis, D. Dzierzanowska, A. Vcev, K. Ivanova, M. Marina, I. Mitov., P. Petrov , A. Özden and M. Popova. The status of antimicrobial resistance of *Helicobacter pylori* in eastern Europe, *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 388–396

72. Rafeey, M., Ghotaslou, R., Nikvash, S., And Hafez A.A. Primary resistance in *Helicobacter pylori* isolated in children from Iran, *J. Infect. Chemother* 2007, 13: 291–295
73. Huang, JQ., Zheng, GF., Hunt, RH., Wong, WM., Lam, SK., Karlberg, J., Wong, BCY., Do patients with non-ulcer dyspepsia respond differently to *Helicobacter pylori* eradication treatments from those with peptic ulcer disease? A systematic review. *World J Gastroenterol.*, 2005; 11(18):2726-2732
74. Ndip, RN., Malange, Takang AE, Ojongokpoko JE., Luma, HN., Malongue, A., Akoachere, JF., Ndip, LM., Macmillan M, Weaver LT. *Helicobacter pylori* isolates recovered from gastric biopsies of patients with gastro-duodenal pathologies in Cameroon: current status of antibiogram. *Trop Med Int Health*. 2008; Mar 31 [Epub ahead of print]
75. Aldana, LP., Kato, M., Nakagawa, S., Kawarasaki, M., Nagasako, T., Mizushima, T., Oda, H., Kodaira, J., Shimizu, Y., Komatsu, Y., Zheng, R., Takeda, H., Sygiyama, T., Asaka, M. The Relationship Between Consumption of Antimicrobial Agents and the Prevalence of Primary *Helicobacter pylori* Resistance. *Helicobacter* 7, 2002., 5:306-309
76. Marais A, Monteiro L, Occhialini A, Pina M, Lamouliatte H, Megraud F. Direct detection of *Helicobacter pylori* resistance to macrolides by a polymerase chain reaction/DNA enzyme immunoassay in gastric biopsy specimens. *Gut*. 1999.;44:463
77. Owen, RJ., Molecular testing for antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*. *Gut*.2002;50: 285–9.
78. Van Doorn, LJ., Glupczynski Y., Kusters, JG., Megraud, F., Midolo, P., Maggi-Solca` N, et al. Accurate prediction of macrolide resistance in *Helicobacter pylori* by a PCR line probe assay for detection of mutations in the 23S rRNA gene: multicenter validation study. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001;45: 1500–4.

79. Versalovic, J., Osato, MS, Spakovsky K., Dore MP, Reddy R, Stone GG, et al. Point mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* associated with different levels of clarithromycin resistance. *J Antimicrob Chemother.* 1997;40: 283–6.
80. Kaneko, F., Suzuki, H., Hasegawa, N, Kurabayashi; K, Saito, H., Otani, S., et al. High prevalence rate of *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin during long-term multiple antibiotic therapy for chronic respiratory disease caused by non-tuberculous mycobacteria. *Aliment Pharmacol Ther.*, 2004;20 Suppl 1:62-7.
81. Masaoka, T., Suzuki, Kurabayashi HK., Kamiya, AG., Ishii, H. Second-line treatment of *Helicobacter pylori* infection after dilution agar methods and PCR RFLP analysis. *Aliment Pharmacol Ther.*, 2004;20 Suppl 1:68-73.
82. Lee, JH., Shin, JH., Roe, IH., Sohn, SG., Lee, JH, Kang, GH, Lee, HK, Jeong BC, Lee SH. Impact of Clarithromycin Resistance on Eradication of *Helicobacter pylori* in Infected Adults. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005;49(4):1600–1603
83. Ling, T.K.W., Leung, W.K, Lee, CC., Ng EKW, Yung, MY., Chung, SSC, Sung JJY, Cheng AFB, The Antimicrobial Susceptibility of *Helicobacter pylori* in Hong Kong (1997-2001). *Helicobacter* 7, 2002, 5: 327–329
84. Yilmaz, Ö., Demiray, E., Tümer, S., Altungöz, O., Yörükoğlu, K., Soytürk., M, Şimşek, İ., Detection of *Helicobacter pylori* and Determination of Clarithromycin Susceptibility Using Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Gastric Biopsy Specimens by Fluorescence In Situ Hybridization; *Helicobacter* (2007); 12 (2) , 136–141
85. Can, F., Yilmaz, Z., Demirbilek, M., Bilekci, B., Künefecci, G., Ataç, FB., Arslan H. Boyacıoğlu S and Sahin Fİ, Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and determination of clarithromycin resistance by fluorescence In Situ Hybridization from Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Gastric Biopsy Specimens . *Can. J. Microbiol.* 51:569-573 (2005)

86. Şimşek, E., Balaban H., , YHŞ, Güneş DD, Haşcelik G, Özarslan E, Tatar G. Alarming Clarithromycin Resistance of *Helicobacter pylori* in Turkish Population. *Helicobacter* 10, 2005, 4: 360–361
87. Hu, CT., Wu.CC., Lin, CY, Cheng, CC., Su, SC., Tseng, YH, Lin NT. Resistance rate to antibiotics of *Helicobacter pylori* isolates in eastern Taiwan. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007 May;22(5): 720–3.
88. Aydın, A., Onder, G., Akarca, U., Tekin F, Tuncyurek, M, Ilter, T. Comparison of 1- and 2-week pantoprazole-based triple therapies in clarithromycin-sensitive and resistant cases. *Eur J Intern Med*. 2007 Oct;18(6): 496–500. Epub 2007 Jul 12.
89. Tüzün, Y., Bayan, K., Yilmaz, S., Dursun, M., Ozekinci, T. The prevalence of primary and secondary *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin and probable contributing cofactors: data from southeastern Anatolia. *Hepatogastroenterology*. 2008 Jan-Feb;55(81):289–93.
90. Mahachai, V., Thong-Ngam, D., Noophun, P., Tumwasorn, S., Efficacy of clarithromycin-based triple therapy for treating *Helicobacter pylori* in Thai non-ulcer dyspeptic patients with clarithromycin-resistant strains. *J Med Assoc Thai*. 2006; Sep; 89 Suppl 3:S74–8.
91. Gu, Q., Xia, HH., Wang, JD., Wong, WM., Chan, A.O., Lai, KC., Chan, CK., Yuen, MF., Fung, F.M, Wong KW, Lam SK, Wong BC Update on clarithromycin resistance in *Helicobacter pylori* in Hong Kong and its effect on clarithromycin-based triple therapy. *Digestion*., 2006;73(2–3):101–6. Epub 2006 Jun 20.
92. Chen, S., Li, Youming, Yu; C, Oligonucleotide microarray: A new rapid for screening the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* for single nucleotide polymorphisms associated with clarithromycin resistance. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*., 23; (2008):126-131
93. Bağlan, PH, Bozdayı, G, Ozkan, M, Ahmed, K, Bozdayı., AM , Özden A. Clarithromycin Resistance Prevalance and IcaA Gene Status in *Helicobacter*

Pylori Clinical Isolates in Turkish Patients with Duodenal Ulcer and Functional Dyspepsia. *The Jour. Of Microbiol.*, 2006; 44(4): 409-416

94. Vincenzo, DF., Margiotta, M., Zullo, A., Hassan, C., Troiani, L., Burattini, O., Stella, F., Clarithromycin-Resistant Genotypes and Eradication of *Helicobacter pylori*, *Ann Intern Med.*, 2006;144:94-100.

95. Hao, Q., Li Y, Zhang, ZJ, Liu, Y., Gao- H., New mutation points in 23S rRNA gene associated with *Helicobacter pylori* resistance to clarithromycin in northeast China. *World J Gastroenterol.*, 2004; 10(7): 1075-1077

96. Garrido, L., Toledo, H., Novel genotypes in *Helicobacter pylori* involving domain V of the 23S rRNA gene. *Helicobacter*. 2007;12(5): 505–9.

97. Alfaresi, MS., Abdulsalam, Al., Elkoush, AA., Analysis of *Helicobacter pylori* antimicrobial susceptibility and virulence genes in gastric mucosal biopsies in the United Arab Emirates. *Indian J Gastroenterol.* 2007., Sep-Oct;26(5):221-4

98. Chisholm, AS., Owen, JR., Application of polymerase chain reaction-based assays for rapid identification and antibiotic resistance screening of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*; 2008; (61) 67–71