

Abdominal Ağrı Yakınlı Hastalarda *Helicobacter pylori* Pozitifliğı ve Risk Analizi

Helicobacter pylori Positivity and Risk Analysis in Patients with Abdominal Pain Complaints

Serdal TARHANE¹, Turgut ANUK², Aliye GÜLMEZ SAĞLAM³, Hacer Ece ÖZCAN⁴,
Mustafa Reha COŞKUN³, Fatih BÜYÜK³, Salih OTLU³

¹ Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.

¹ Kafkas University, Institute of Health Sciences, Kars, Turkey.

² Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Kars.

² Kafkas University Faculty of Medicine, Department of General Surgery, Kars, Turkey.

³ Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kars.

³ Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Microbiology, Kars, Turkey.

⁴ Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Kars.

⁴ Kafkas University Faculty of Medicine, Department of Medical Pathology, Kars, Turkey.

Makale Atfı: Tarhane S, Anuk T, Gülmez Sağlam A, Özcan HE, Coşkun MR, Büyük F, Otlı S. Abdominal ağrı yakınmalı hastalarda *Helicobacter pylori* pozitifliğı ve risk analizi. Mikrobiyol Bul 2019;53(3):262-273.

ÖZ

Helikobakterler, özel virölans faktörleri ve çevresel faktörlerin etkisiyle geniş konak çeşitliliğine sahip olup insanlarda da enfeksiyonlara yol açabilmektedirler. Mide ve çevresinde yaşamalarından dolayı gastrik bakteriler olarak adlandırılan grup başta *Helicobacter pylori* olmak üzere *Helicobacter heilmannii*, *Helicobacter felis*, *Helicobacter salomonis* ve diğer birçok *Helicobacter* türünden oluşmaktadır. Bu çalışmada abdominal ağrı şikâyetleriyle Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Endoskopi birimine başvuran toplam 195 hastanın (119'u kent ve 76'sı kırsalda yaşayan, 18 ile 93 yaş aralığında 121 kadın ve 74 erkek) gastrik bakteriler (*H.pylori*, *H.felis* ve *H.heilmannii*) yönünden değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, hastalardan endoskopi işlemi takiben midenin çeşitli kısımlarından (korpus ve antrum) alınan biyopsi örnekleri histopatolojik inceleme ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile analiz edilmiştir. Histopatolojik analizde alınan kesitler May-Grunwald-Giemsa ile boyanarak yüzey epitellerine tutunmuş spiral şekilli bakteriler aranmıştır. Biyopsi örneklerinden direkt etken analizinde ise 16S rRNA gen temelli cinse özgül PCR ve üreaz B gen temelli türe özgül PCR yöntemleri kullanılmıştır. Histopatolojik değerlendirmesi yapılan 195 örneğin 163 (%83.58)'ü gastrik bakteriler yönünden pozitif bulunurken, beş örnek şüpheli ve 27 örnek negatif saptanmıştır. Cinse özgül PCR ile histopatolojisi pozitif 91, negatif 13 ve şüpheli üç örnekten olmak üzere toplam 107 (%54.87) örnekte *Helicobacter* spp. DNA'sı saptanmıştır. Örneklerin 87 (%44.61)'si türe özgül PCR ile *H.pylori* olarak tanımlanmıştır. Örneklerin hiçbirisinde *H.felis* ve *H.heilmannii* saptanamazken, cinse özgül PCR ile pozitif bulunan 20 örnek tanımlanamamıştır. Çalışmada, kentsel alanlarda yaşayan bireylerin %42.85'i ve kırsalda yaşayanların %47.36'sında *H.pylori* saptanmıştır. Kadınların %46.28'i ve erkeklerin %41.89'u *H.pylori* yönünden pozitif olarak belirlenmiştir. 15-24 yaş arası bireylerin %60'ı, 25-44 yaş arası bireylerin %60.27'si, 45-64 yaş arası bireylerin %34.66'sı ve 65 yaş ve üzeri bireylerin %29.72'si *H.pylori* yönünden

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Fatih Büyük, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 36100, Kars, Türkiye. Tel (Phone): +90 474 242 68 36-5139, E-posta (E-mail): fatihbyk08@hotmail.com

pozitif belirlenirken, kedi-köpek besleyen bireylerin %42.64'ü, beslemeyenlerin ise %45.66'sında *H.pylori* saptanmıştır. Elde edilen bu determinantlar ile hastalık prevalansı arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p > 0.05$). Ancak, *H.pylori* pozitifliği, aktif çalışma yaş dönemi olan 25-44 yaş grubu bireylerde artan etken maruziyetine bağlı olarak daha fazla saptanmıştır ($p < 0.05$). Bu çalışma bölgemizdeki insanlarda *H.pylori* yaygınlığı ve olası risk faktörlerinin analizi ile ilgili ilk çalışma olup, bu konuda çalışma yapan araştırmacılar için faydalı bilgiler sunacağı düşünülmüştür.

Anahtar kelimeler: Gastrik helicobakter; *Helicobacter pylori*; histopatoloji; polimeraz zincir reaksiyonu; risk analizi.

ABSTRACT

Helicobacters have wide host diversity due to their particular virulence and environmental factors and may cause infections in humans. As they live in and around the stomach the group is called as gastric helicobacters which particularly consists of *Helicobacter pylori* and *Helicobacter heilmanni*, *Helicobacter felis*, *Helicobacter salomonis* and many other species, as well. In this study, it was aimed to evaluate 195 patients (119 urban and 76 rural residents, 121 female and 74 male individuals between 18 and 93 years of age) in terms of gastric *Helicobacter* (*H.pylori*, *H.felis* and *H.heilmannii*) who have admitted to the Health Research and Application Center of Kafkas University Endoscopy Unit of the General Surgery Department with the complaints of abdominal pain. For this purpose, biopsy specimens obtained from various parts of the stomach (corpus and antrum) by endoscopy were analyzed with histopathological examination and PCR. Histopathological analysis sections were stained with May-Grunwald-Giemsa and spiral-shaped helicobacters attached to the surface of the epithelium were investigated. For the direct analysis of *Helicobacter* in biopsy samples, 16S rRNA gene based genus-specific and urease B gene based species-specific PCR methods were used. Out of the 195 cases that were histopathologically evaluated 163 (83.58%) were found to be positive for gastric *Helicobacter*, while five were suspected and 27 were negative. *Helicobacter* spp. DNA were detected in 107 (54.87%) samples, of these samples 91 were histopathologically positive, 13 were negative and three were suspicious samples. Eighty seven (44.61%) of the samples were identified as *H.pylori* by species-specific PCR. *H.felis* and *H.heilmannii* could not be detected in any of the samples; meanwhile genus-specific PCR positive 20 samples were not identified. In this study, 42.85% of the individuals living in urban area and 47.36% of those living in rural area were identified as *H.pylori* positive. 46.28% of women and 41.89% of men were positive for *H.pylori*. The age range of *H.pylori* positive individuals were as follows: 60% of the individuals were between 15-24 years, 60.27% of the individuals were between 25-44 years, 34.66% of the individuals were between 45-64 years and 29.72% of the individuals were 65 and over. 42.64% of the cat or dog owners were found as *H.pylori* positive whereas *H.pylori* was positive in 45.66% of the individuals who do not own animals. No significant relationship was found between these determinants and the prevalence of the disease ($p > 0.05$). However, the positivity of *H.pylori* was higher in the 25-44 active working age group due to the increased agent exposure ($p < 0.05$). This study is the first study on the prevalence of *H.pylori* in humans and analysis of possible risk factors in the region and hoped to provide useful information for the researchers working in this field.

Keywords: Gastric helicobacter; *Helicobacter pylori*; histopathology; polymerase chain reaction; risk analysis.

GİRİŞ

Helicobacter cinsi mikroorganizmalar insanların ve çeşitli hayvanların (kedi, köpek, domuz vb.) sindirim sisteminde kolonize olabilen ve yagısal sonulara yol aan gram-negatif sarmal grnml bakterilerdir. Mide ve evresindeki yerleşimlerinden dolayı gastrik helicobakterler olarak adlandırılan grup başta *Helicobacter pylori* olmak üzere *Helicobacter heilmannii*, *Helicobacter felis* ve *Helicobacter salomonis* ve diğerk birçok *Helicobacter* türünden oluřmaktadır¹.

Gelişmiş ülkelerde %20-50, gelişmekte olan ülkelerde ise %80 saptanma düzeyi ile *H.pylori* dünyanın en yaygın enfeksiyon etkeni olarak bilinmektedir. Bu enfeksiyonun pre-

valansı coğrafik bölge, yaş, cinsiyet gibi faktörlerin yanı sıra hijyen uygulamaları, meslek, gelir düzeyi, yaşam koşulları ve etnik faktörler gibi birçok sosyoekonomik değışkene bağı olarak farklılık göstermektedir. *H.pylori*, insanlarda başta gastrit, ülser, mide kanseri ve gastrik B-lenfosit lenfoması (MALT lenfoma) olmak üzere, otoimmün tiroid hastalığı, trombositopenik purpura, demir eksikliği anemisi ve migren gibi sindirim sistemi dışındaki hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir². Diğer gastrik türlerin (*H.felis* ve *H.heilmannii*) insanlarda benzer hastalıklara yol açabileceği bildirilmesine rağmen bu türler oldukça nadir olarak hastalık yapmaktadırlar^{3,4}. Sayılan bu türlerle ilgili insan enfeksiyonları daha çok kedi-köpek varlığı, bakım ve beslenmesi ile ilişkilendirilmiştir ancak *H.pylori* için hayvanlardan bulaş riski kesin olarak kanıtlanmamıştır⁴.

Bakterinin kültürü zor ve zahmetli olduğundan, gastrik helikobakter enfeksiyonlarının tanısında histopatolojik analiz, hızlı üreaz testi, üre nefes testi, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve ELISA gibi birçok yöntem kullanılmaktadır. Direkt tanıda kullanılan histopatolojik yöntemlerle dokulardaki enflamasyon ve metaplazinin derecesi ve gastrik kanser varlığı araştırılabilmekte ve bunlara ilaveten tipik sarmal şekilli bakterilerin saptanması ile teşhis konulabilmektedir⁵. Atrofik gastrit ve intestinal metaplazi olasılığı nedeniyle histopatolojik analizin midenin korpus ve antrumundan alınan örnekler üzerinde yapılması tercih edilmektedir⁶. Tanı yöntemleri arasında yer alan PCR yöntemi, yüksek duyarlılığı ile biyopsi örneklerinden helikobakterlerin direkt tanısında güvenilir sonuçlar vermektedir⁵.

Bu çalışmada, Kars yöresinde yaşayan ve abdominal ağrı şikâyeti ile Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Endoskopi Birimine kabul edilen hastaların mide biyopsi örneklerinden *H.pylori*, *H.felis* ve *H.heilmannii* türlerinin histopatolojik ve PCR yöntemleri ile karşılaştırmalı analizi ve helikobakter pozitifliğinin çeşitli hastalık determinantları (yaş, cinsiyet, coğrafik karakteristik, hayvan besleme vb.) ile korelasyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Kafkas Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığının onayı ile gerçekleştirildi. (Tarih: 26/10/2016 ve Karar no: 101)

Hasta Grubu

Bu çalışma, 2016-2017 tarihleri arasında Kafkas Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Genel Cerrahi Anabilim Dalı Endoskopi Birimine abdominal ağrı şikayeti ile başvuran bireyler üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmaya, Kars yöresinde yaşayan, yaşları 18 ile 93 arasında değışen ve çeşitli abdominal ağrı şikayetleriyle ilgili birime kabul edilen 121 kadın ve 74 erkek olmak üzere toplam 195 hasta dahil edildi. Çalışmada hastaların demografik özellikleri (yaş ve cinsiyet), coğrafik karakteristikleri (kentsel ve kırsal yaşam) ve kedi-köpek sahipliği gibi epidemiyolojik veriler de kaydedildi. Hastalara ait mide biyopsi örnekleri (antrum ve korpus bölgesinden) endoskopi biriminde uzmanlar tarafından usulüne uygun olarak alındı ve biyopsilerden biri histopatolojik analiz için %10'luk formol içerisinde Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarlarına, diğeri ise PCR analizi

için 1 ml steril serum fizyolojik (%0.9 NaCl₂) bulunan tüplere aktararak soğuk zincirde kısa sürede Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarına ulaştırıldı.

Histopatolojik Analiz

Çalışmada 195 hastanın biyopsi örneğinin histopatolojik analizi yapıldı. Bu amaçla, endoskopi ile midenin antrum ve korpus kısımlarından alınan biyopsi örneklerinden 5 µm kalınlıkta kesitler hazırlandı ve May-Grunwald-Giemsas ile boyanarak mide yüzey epitelilerine tutunmuş sarmal şekilli helikobakterler arandı⁷.

Moleküler Analiz

Doku örneklerinin steril serum fizyolojik (%0.9 NaCl₂) ile homojenizasyonu sonrası ticari kit (DNeasy Blood & Tissue Kits, Qiagen, Almanya) ile örneklerden DNA ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Örneklerin, 16S rRNA gen temelli primer çifti ile cinse özgül PCR⁸ ve üreaz B gen temelli primer çifti ile türe özgül PCR⁹ analizleri gerçekleştirildi (Tablo I). Cins ve türe özgül PCR için hazırlanan 25 µl'lik total reaksiyon karışımı; 200 µM dNTP miks, 1 X tampon çözeltisi, 20 pmol primer-F, 20 pmol primer-R, 1.5 mM MgCl₂, 0.75 U Taq DNA polimeraz, RNase-DNase içermeyen su ve 2.5 µl kalıp DNA içerecek şekilde hazırlandı. Reaksiyonun ısı döngüsü cinse özgül PCR'de; 94°C'de 2.5 dk ilk denatürasyonu takiben, 40 döngüden oluşan 94°C'de 1 dk denatürasyon, 50°C'de 1 dk primer bağlanması, 72°C'de 1 dk zincir uzaması ve son olarak 72°C'de 15 dk son uzama şeklinde tamamlandı. Türe özgül PCR'de; 94°C'de 3 dk ilk denatürasyonu takiben, 30 döngüden oluşan 94°C'de 30 sn denatürasyon, 57°C'de 30 sn primer bağlanması, 72°C'de 1 dk zincir uzaması ve son olarak 72°C'de 5 dk son uzamadan oluşan ısı döngüsü uygulandı. PCR reaksiyonları, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi suş koleksiyonundan temin edilen tanımlanmış helikobakter türlerinden oluşan pozitif kontroller ve RNase-DNase içermeyen suyun kullanıldığı negatif kontrol eşliğinde gerçekleştirildi. PCR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla %1.5 agaroz içeren yatay jel elektroforez tekniği kullanıldı ve Tablo I'de belirtilen özgül bant büyüklükleri arandı.

Tablo I. Helikobakterlerin Tanımlanmasında Kullanılan Cins ve Türe Özgül PCR Primerleri

	PCR türleri ve primerler	Baz çifti (bp)	Hedef
	Cins özgül primerler (5'---3')		
Helikobakter F	GCTACGATCC	400	16S rRNA
Helikobakter R	GATTTTACCCCTACA		
	Tür özgül primerler (5'---3')		
H.pylori F	GGAATTCCAGATCTAAAAAGATTAGCAGAAAAG	1.707	Üreaz B
H.pylori R	GGAATTCGTCGACCTAGAAAATGCTAAGTTG		
H.felis F	ATGAACTAACGCCTAAAGAACTAG	1.150	
H.felis R	GGAGAGATAAAGTGAATATGCGT		
H.heilmannii F	GGGCGATAAAGTGCGCTTG	580	
H.heilmannii R	CGTGTCAATGAGAGCAGG		
PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu.			

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu.

İstatistiksel Analiz

H.pylori pozitifliği ve demografik özelliklerin korelasyonunun değerlendirildiği bu çalışmada toplam 195 hastaya ait veriler kullanıldı. Verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistic 20.0. programı aracılığı ile gerçekleştirildi. Örnek sayısının ($n=195$) istatistiksel güç yönünden analizi Student's t-test aracılığı ile yapıldı¹⁰. *H.pylori* pozitifliği ile cinsiyet, coğrafi özellik ve kedi-köpek sahipliği korelasyonu Fisher kesinlik testi (Fisher's exact test) ile analiz edildi. *H.pylori*'nin yaş ile olan korelasyonu ise Pearson ki-kare testi ile analiz edildi ve yaş gruplamasında Birleşmiş Milletler (UN) yaş skalası kullanıldı¹¹. $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Histopatolojik incelemede May-Grunwald-Giemsa ile boyalı preparatlarda helikobakterler, açık mavi zeminde koyu mavi renkte boyanmış, sarmal bakteriler olarak gözlenmiştir (Resim 1).

Histopatolojik olarak incelenen 195 mide biyopsi örneğinin 163 (%83.58)'ü gastrik helikobakterler yönünden pozitif bulunurken, beş örnek şüpheli ve 27 örnek negatif olarak saptanmıştır (Tablo II).

Cinse özgül PCR sonucu 195 mide biyopsi örneğinin 107 (%54.87)'sinde 400 bp bant büyüklüğünde amplifiye ürünlerin varlığı ile *Helicobacter* DNA'sı saptanmış, 88 örnek negatif bulunmuştur. Bu örneklerin türe özgül PCR analizi sonrası 87 (%81.3)'si, 1707 bp bant büyüklüğünde amplifiye ürünlerin varlığı ile *H.pylori* olarak tanımlandı. Toplamda 195 örnekten 87 (%44.61)'si *H.pylori* yönünden pozitif olarak tanımlandı. Cinse özgül



Resim 1. May-Grunwald-Giemsa ile boyalı preparatlarda koyu mavi renkte boyanmış spiral şekilli helikobakterler.

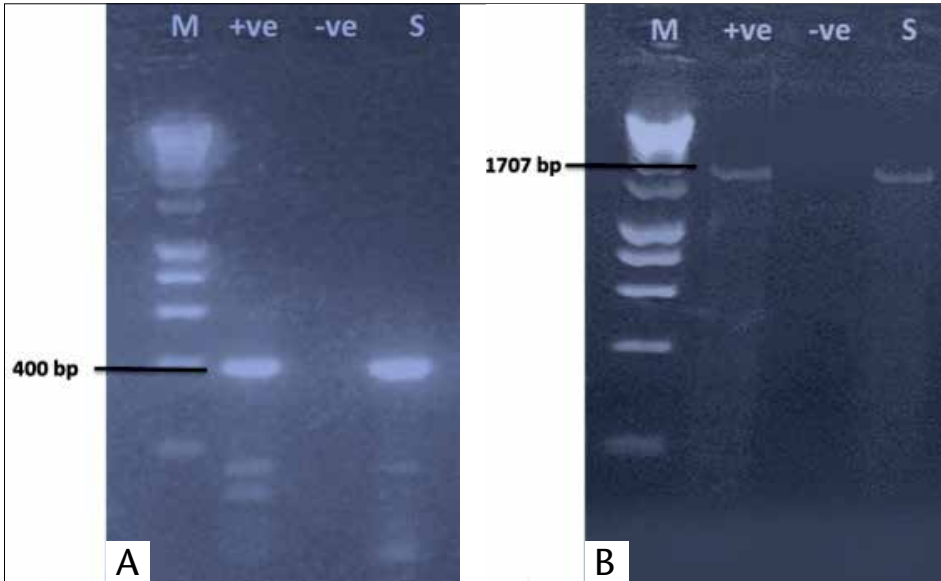
Tablo II. Gastrik *Helikobakter* Türlerinin Analizi İçin Kullanılan Yöntemlere Ait Tanısal Veriler

		Histopatolojik analiz		
		Pozitif (n= 163)	Negatif (n= 27)	Şüpheli (n= 5)
<i>Helicobacter</i> spp.	Pozitif (n= 107)	91	13	3
	Negatif (n= 88)	72	14	2
<i>H.pylori</i>	Pozitif (n= 87)	74	10	3
	Negatif (n= 108)	89	17	2

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu.

PCR pozitif 20 örnek araştırılan gastrik *helikobakter*ler (*H.pylori*, *H.felis* ve *H.heilmannii*) yönünden negatif saptanmıştır (Resim 2, Tablo II).

Hastaların histopatolojik analiz bulguları ile PCR bulguları arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Değerlendirilen 195 örneğin 163'ünün histopatolojisi pozitif olup bu örneklerin sadece 91'inde *Helicobacter* DNA'sı saptanmış ve bunların da 74'ü *H.pylori* olarak tanımlanmıştır. Ayrıca histopatolojisi şüpheli beş örnekten üçü cins ve türe özgül PCR ile pozitif saptanırken, histopatolojisi negatif 27 örneğin 13'ü cinse özgül PCR ile ve bunların da 10'u türe özgül PCR ile pozitif bulunmuştur (Tablo II).



Resim 2. (A) Cins (*Helicobacter* spp.) ve (B) tür (*H. pylori*) özgül PCR amplifiye ürünlerine ait jel elektroforez görüntüsü. M: Marker (HyperLadder 100 bp ve 1kb, Bioline), +ve: pozitif örnek (standart suş), -ve: negatif örnek (distile su), S: pozitif örnek (biyopsi materyali).

Tablo III. Sosyodemografik Özelliklere Göre *Helicobacter pylori* Pozitifliği

Değişkenler	<i>H.pylori</i> pozitif	<i>H.pylori</i> negatif	Toplam	Odds oranı	p
Cinsiyet					
Erkek	31	43	74	1	0.557
Kadın	56	65	121	1.2	
Yaş					
15-24	6	4	10	3.5	0.002
25-44	44	29	73	3.6	
45-64	26	49	75	1.3	
65 ve üzeri	11	26	37	1	
Coğrafik özellik					
Kentsel	51	68	119	1	0.557
Kırsal	36	40	76	1.2	
Kedi-köpek sahipliği					
Evet	29	39	68	1	0.762
Hayır	58	69	127	1.1	

H.pylori pozitifliği ve demografik özelliklerin korelasyonunun değerlendirildiği bu çalışmada toplam 195 hastaya ait veriler kullanılmıştır ve yapılan güç analizinde ($p_1 = \%39$, $p_2 = \%5.6$, $n_1 = 76$, $n_2 = 11$) 0.05 anlamlılık seviyesinde, $\%95$ güven aralığında çalışmanın gücünün 0.99 olduğu belirlenmiştir. Bu değer örneklem hacminin yeterli olduğuna işaret etmektedir. *H.pylori* varlığının cinsiyete göre dağılımlına bakıldığında, örneklenen 121 kadından 56 ($\%46.28$)'sı ve 74 erkekten 31 ($\%41.89$)'inde *H.pylori* saptanmıştır. *H.pylori* kolonizasyonunun cinsiyete göre dağılımı istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulunurken, kadınlarda *H.pylori* riskinin erkeklere oranla 1.2 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Odds oranı 1.2) (Tablo III).

H.pylori varlığının yaşa göre dağılımına bakıldığında; 15-24 yaş arası 10 örnekten altısında ($\%60$), 25-44 yaş arası 73 örnekten 44 ($\%60.27$)'ünde, 45-64 yaş arası 75 örnekten 26 ($\%34.66$)'sında ve 65 yaş ve üzeri 37 örnekten 11 ($\%29.72$)'inde *H.pylori* saptanmıştır. *H.pylori* kolonizasyonunun yaşa göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulunurken, *H.pylori* riskinin 65 ve üzeri yaş grubuna oranla, 15-24 yaş grubu bireylerde 3.5 kat, 25-44 yaş grubu bireylerde 3.6 kat ve 45-64 yaş grubu bireylerde ise 1.3 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Tablo III).

H.pylori pozitifliğinin insanların coğrafik özelliğe göre dağılımına bakıldığında, kentsel alanlarda yaşayan 119 bireyin 51 ($\%42.85$)'i ve kırsalda yaşayan 76 bireyin 36 ($\%47.36$)'sında *H.pylori* saptanmıştır. *H.pylori* kolonizasyonunun coğrafik yerleşmeye göre dağılımı istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulunurken, kırsalda yaşayan insanlarda *H.pylori* riskinin kentsel alanlarda yaşayanlara oranla 1.2 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Odds oranı 1.2) (Tablo III).

H.pylori pozitifliğinin insanların kedi-köpek gibi evcil hayvan sahipliliği ile olan ilişkisine bakıldığında, kedi-köpek besleyen 68 bireyden 29 (%42.64)'u ve kedi köpek beslemeyenlerde 127 bireyden 58 (%45.66)'inde *H.pylori* saptanmıştır. *H.pylori* kolonizasyonunun kedi-köpek sahipliliğine göre dağılımı istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulunurken, kedi-köpek beslemeyen bireylerde *H.pylori* riskinin kedi-köpek besleyenlere oranla 1.1 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Odds oranı 1.1) (Tablo III).

TARTIŞMA

Helikobakter enfeksiyonlarının klinik teşhisinde üreaz testi, histopatolojik inceleme, üre nefes testi, serolojik teknikler, kültür, dışkı antijen testi ve PCR gibi birçok yöntem uygulanmaktadır. Etkenin direkt tanısında kullanılan histopatolojik yöntemlerin tanılabilirliği, alınan biyopsi sayısı, örnek alınan bölgenin bakteri yükü, boyama yöntemi ve tanıyı koyan kişinin bilgi ve becerisi ile yakından ilişkilidir^{5,12}. Histopatolojik analizde örnekler, hematoksilin-eozin, Warthin-Starry gümüşleme, akridin oranj, Giemsa veya alcian mavisi ile boyandıktan sonra mukus içinde yüzey epiteline tutunmuş bakteriler araştırılmaktadır. Bu teknikler midede oluşan değişikliklerin de gösterilebilmesi açısından önemli bir tercih nedeni olmaktadır¹³. Khalifehgholi ve arkadaşları¹⁴ tarafından yapılan bir çalışmada 91 hastaya ait biyopsi, kan ve dışkı örnekleri *H.pylori* yönünden incelenmiş ve PCR'ye kıyasla en yüksek duyarlılık %95.6 oranla histopatolojik analiz ve hızlı üreaz testi ile elde edilmiştir. Pacheco ve arkadaşları¹⁵ tarafından yapılan bir başka çalışmada dispepsili 106 hastaya ait biyopsi örnekleri serolojik, histopatolojik, hızlı üreaz testi ve PCR ile incelenmiş ve en yüksek (%86) pozitiflik histopatolojik yöntemle elde edilmiştir. Bu çalışmada mide biyopsi örneklerinin histopatolojik incelenmesi sonucu 163 (%83.58)'ünde *Helicobacter* spp. tanısı konulurken, PCR analizleri ile histopatolojik olarak pozitif bulunan 91 örnek de dahil toplam 107 (%54.87) örnekte *Helicobacter* spp. DNA'sı belirlenmiş ve bu örneklerin 87 (%81.3)'ü *H.pylori* olarak tanımlanmıştır. Toplamda 195 örneğin 87 (%44.61)'i *H.pylori* pozitif olarak saptanmıştır. Yöntemler arası önemli ($p < 0.01$) farklılıklar tespit edilmiş olup genel anlamda histopatolojik analiz ile PCR yöntemleri arasındaki uyum oldukça düşük olarak saptanmıştır. PCR ile elde edilen pozitif sonuçlar diğer çalışmalardakine^{16,17} benzer nitelikte olmakla beraber histopatolojik bulgulara oranla az sayıda olduğu tespit edilmiştir. Ancak bakteri özgül gen bölgelerinin in vitro olarak çoğaltıldığı PCR tekniğinin üstünlüğü birçok çalışmada vurgulanmış ve *H.pylori*'nin teşhisinde "altın standart" olarak tanımlanan birçok yöntemle karşılaştırıldığında PCR'nin tanılabilir kapasitesi bunlara eşdeğer bulunmuştur^{5,15}. Bakteriyel DNA'nın özgül amplifikasyonuna bağlı olan PCR'ye kıyasla, boyanmış kıvrımlı bakterilerin görsel gözlemi üzerine kurulan histopatolojik analizde pozitifliğin daha fazla olmasının en muhtemel nedeni bu çalışmada incelenenlerin dışında *Helicobacter* türlerinin veya diğer kıvrımlı bakterilerin varlığı olarak düşünülmüştür. Ayrıca histopatolojik analizdeki pozitifliğin yüksek olarak saptanması boyama tekniği ve değerlendirilmesindeki hataları ve analizi yapan kişilerden kaynaklı yanlışlıkları da akıllara getirmektedir. Dolayısıyla *H.pylori* pozitifliğinde türe özgül PCR sonuçları esas alınmış ve enfeksiyon ile hastalık determinantlarının ilişkilendirilmesi bu oran üzerinden gerçekleştirilmiştir.

H.pylori insanlarda en yaygın gastrik helikobakter türüdür. Bunun yanı sıra özellikle kedi-köpek teması olan bireylerde diğer gastrik türler, *H.heilmannii* ve *H.felis*, bağlı enfeksiyonlar da bildirilmiştir¹⁸. Sağlıklı kedi ve köpeklerde %40-100 oranlarında saptanan bu gastrik türler insan sağlığı açısından risk arz etmektedir^{19,20}. Bu çalışmada örneklerin 87 (%44.61)'si *H.pylori* olarak tanımlanırken, hiçbirisinde *H.felis* ya da *H.heilmannii* belirlenememiştir. Örneklerin 20 (%10.2)'sinde ise *Helicobacter* DNA'sı saptanmış ancak incelenen gastrik türler yönünden pozitiflik elde edilememiştir. *H.pylori* pozitifliği açısından kedi ve/veya köpek besleyenler ile beslemeyenler arasında istatistiksel olarak bir anlam saptanamazken ($p > 0.05$ ve Odds oranı kedi-köpek beslemeyenlerde 1.1), bunun *H.pylori*'nin kedi ve köpeklerde çok nadir olarak görülmesi⁸ ve dolayısıyla bu hayvanların insanlara bulaşmada *H.pylori* için olası rezervuar olmamalarından kaynaklanıyor olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Tanımlanamayan 20 örneğin ise sığır ya da koyun orijinli olası diğer gastrik helikobakter türleri (*H.salomonis*, *H.bizzozeronii* vs.) yönünden değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Yangısal olarak akut ve kronik evreleri olan *H.pylori* enfeksiyonu hemen her yaş grubu insanda görülmesine rağmen olguların büyük bir çoğunluğuna (%80) 50 yaş öncesi erişkin yaş grubunda rastlanılmaktadır. Yaşa paralel olarak enfeksiyon prevalansındaki artışın, insanların ömürleri boyunca bakteriye sürekli temas ihtimallerinden kaynaklı olacağı düşünülmekle beraber^{21,22} bunun aksi durumlar da söz konusudur ve genç yaşta çocuklarda da enfeksiyon bildirilmiştir²³. Bu çalışmada *H.pylori* pozitif hastaların yaşları 18 ile 79 arasında değişmekte olup, 15-24 yaş arası 10 örnekten altısında (%60), 25-44 yaş arası 73 örnekten 44 (%60.27)'ünde, 45-64 yaş arası 75 örnekten 26 (%34.66)'sında ve 65 yaş ve üzeri 37 örnekten 11 (%29.72)'inde *H.pylori* saptanmıştır. *H.pylori* kolonizasyonunun yaşa göre dağılımı istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulunurken, diğer tüm yaş grubu bireylerde *H.pylori* riskinin 65 ve üzeri yaş grubuna oranla daha fazla olduğu belirlenmiştir (Odds oranları 1.3 ile 3.6 arası değişmektedir) (Tablo III). 15-24 ve 25-44 yaş gruplarında enfeksiyon oranının daha fazla olmasının nedeni aktif çalışma yaşına sahip bireylerden oluşuyor olmaları ve buna bağlı olarak artan etken maruziyetleri olarak düşünülmektedir. Buna ilaveten ilerleyen yaşlarda atrofiye mide yapısının gelişimi ve antibiyotik ve antisekretuar tedavi girişimlerinin artması saptanabilir mikroorganizma sayısını azaltmaktadır²⁴. Ayrıca, çalışılan yöre itibarıyla düşük sosyo-ekonomik durum, genetik faktörler ve yetersiz eğitimin bahsi geçen bu yaş gruplarında etken kolonizasyonuna olumlu katkı sağladığı düşünülmektedir²⁵.

Popülasyonlar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, *H.pylori* enfeksiyonunun erkeklerde daha fazla olduğuna dair genel bir kanı bulunmaktadır ve bu konuyla ilgili meta-analizler yapılmıştır²⁶. Enfeksiyonun cinsiyet dağılımı tam olarak açıklanamamakla beraber erkeklerin hijyenik olmayan ortamlarda daha yoğun bulunmaları ve sigara, alkol gibi daha riskli davranış eğilimlerinin fazla olması şeklinde yorumlanmıştır²⁷. Bu durumun aksi de bildirilmiş^{28,29} ve enfeksiyon ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki kurulamamıştır^{30,31}. Bu çalışmada kadınlara ait örneklerin %46.28 ve erkekler için örneklerin %41.89'i *H.pylori* yönünden pozitif saptanırken, *H.pylori* kolonizasyonunun cinsiyete göre dağılımı istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulundu. Ancak diğer çalışmalara^{29,30} benzer şekilde kadınlarda *H.pylori* riskinin erkekler için oranla 1.2 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Odds oranı 1.2). Enfeksiyonun kadınlarda fazla olmasının raslantısal olduğu düşünülmektedir.

H.pylori enfeksiyonunun yaygınlığı toplumun sosyoekonomik durumuyla yakından ilişkilidir³². Temiz içme suyuna ulaşım sıkıntısı, hijyenik tuvaletlerin olmayışı, sınırsız açık alan erişimi ve hayvan maruziyetleri gibi belirleyicilerin yer aldığı kırsal kesimlerde *H.pylori* enfeksiyon riski kentsel yaşama oranla daha fazladır^{33,34}. Bu çalışmada, kentsel alanlarda yaşayan bireylerin %42.85'i ve kırsalda yaşayan bireyin %47.36'sında *H.pylori* saptanırken, *H.pylori* kolonizasyonunun coğrafik yerleşkeye göre dağılımı istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulunmuştur. Bu durumun, Kars yöresinde şehir merkeziyle kırsal kesim arasındaki yaşam standartlarının farklı olmaması, predispozisyon oluşturan faktörlerin benzer olması ve aynı kalabalık aile ortamının her iki alanda da paylaşılmasından kaynaklanıyor olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Kırsalda yaşayan insanlarda *H.pylori* riskinin kentsel alanlarda yaşayanlara oranla 1.2 kat daha fazla olması (Odds oranı 1.2) ise temelinde hijyen ve sanitasyonla ilgili belirleyicilerin yer aldığı kırsal yaşamın bir sonucu olarak düşünülmektedir.

Sonuç olarak, gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de *H.pylori* enfeksiyonu yaygın görülmesi nedeniyle ciddiyetini korumaktadır. *H.pylori* enfeksiyonunun doğru teşhis edilebilmesi için uygun tanı algoritmalarının belirlenmesi gerekmektedir. Bu çalışma ile elde edilen veriler bölgemiz insanlarında yapılan ilk çalışma olup Kars yöresinde *H.pylori* yaygınlığı ve bununla ilgili risk faktörlerinin analizi hakkında bu konuda çalışanlar için faydalı bilgiler sunacağı umulmaktadır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Solnick JV, Schauer DB. Emergence of diverse *Helicobacter* species in the pathogenesis of gastric and enterohepatic diseases. Clin Microbiol Rev 2001;14(1):59-97.
2. Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Rev 2006;19(3):449-90.
3. Van den Bulck K, Decostere A, Baele M, Driessen A, Debonnie JC, Burette A, et al. Identification of Non-*Helicobacter pylori* spiral organisms in gastric samples from humans, dogs, and cats. J Clin Microbiol 2005;43(5):2256-60.
4. Haesebrouck F, Pasmans F, Flahou B, Chiers K, Baele M, Meyns T, et al. Gastric Helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. Clin Microbiol Rev 2009;22(2):202-23.
5. Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, Wu MC, Shih HY, Wang SS, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and development. World J Gastroenterol 2015;21(40):11221-35.
6. Selgrad M, Tammer I, Langner C, Bornschein J, Meißle J, Kandulski A, et al. Different antibiotic susceptibility between antrum and corpus of the stomach, a possible reason for treatment failure of *Helicobacter pylori* infection. World J Gastroenterol 2014;20(43):16245-51.
7. Suzana MK, Skender T, Emine DD, Halil A, Vjollca SM, Agron K, et al. *Helicobacter pylori* gastritis Updated Sydney classification applied in our material. Prilozi 2009; 30(1):45-60.
8. Ghil HM, Yoo JH, Jung WS, Chung TH, Youn HY, Hwang CY, et al. Survey of *Helicobacter* infection in domestic and feral cats in Korea. J Vet Sci 2009;10(1):67-72.
9. Neiger R, Dieterich C, Burnens A, Waldvogel A, Corthésy-Theulaz I, Halter F, et al. Detection and prevalence of *Helicobacter* infection in pet cats. J Clin Microbiol 1998;36(3):634-7.

10. apık C. İstatistiksel g analizi ve hemşirelik araştırmalarında kullanımı: Temel bilgiler. Anadolu Hemşirelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi 2014;17:4.
11. United Nations. Provisional Guidelines on Standard International Age Classifications. United Nations Publication, Sales no. E.82.XVII.5. New York: United Nations, 1982.
12. Aydın O, Egilmez R, Karabacak T, Kanik A. Interobserver variation in histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. World J Gastroenterol 2003;9(10):2232-5.
13. Karabiber N. *Helicobacter pylori* infeksiyonu tanı yöntemleri. Klimik Derg 1992;5(1):15-6.
14. Khalifehgholi M, Shamsipour F, Ajhdarkosh H, Ebrahimi Daryani N, Pourmand MR, Hosseini M, et al. Comparison of five diagnostic methods for *Helicobacter pylori*. Iran J Microbiol 2013;5(4):396-401.
15. Pacheco N, Mago V, Gomez I, Gueneau P, Guelrud M, Reyes N, et al. Comparison of PCR and common clinical tests for the diagnosis of *H.pylori* in dyspeptic patients. Diagn Microbiol Infect Dis 2001;39(4):207-10.
16. Lage AP, Godfroid E, Fauconnier A, Burette A, Butzler JP, Bollen A, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by PCR: Comparison with other invasive techniques and detection of *cagA* gene in gastric biopsy Specimens. J Clin Microbiol 1995;33(10):2752-6.
17. Asrat D, Kassa E, Mengistu Y, Ashenafi S, Ayenew K, Abu-Al-Soud W, et al. Comparison of diagnostic methods for detection of *Helicobacter pylori* infection in different clinical samples of ethiopian dyspeptic patients. Austral-Asian Journal of Cancer 2007;6(4):231-7.
18. Chisholm SA, Owen RJ. Development and application of a novel screening PCR assay for direct detection of '*Helicobacter heilmannii*'-like organisms in human gastric biopsies in Southeast England. Diagn Microbiol Infect Dis 2003;46(1):1-7.
19. Handt LK, Fox JG, Dewhirst FE, Fraser GJ, Paster BJ, Yan LL, et al. *Helicobacter pylori* isolated from domestic cat: Public health implications. Infect Immun 1994;62(6):2367-74.
20. Van den Bulck K, Decostere A, Baele M, Driessen A, Debongnie JC, Burette A, et al. Identification of non-*Helicobacter pylori* spiral organisms in gastric samples from humans, dogs, and cats. J Clin Microbiol 2005;43(5):2256-60.
21. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ Jr, Klein PD, Adam E. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology 1991;100(6):1495-501.
22. Nagy P, Johansson S, Molloy-Bland M. Systematic review of time trends in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in China and the USA. Gut Pathog 2016;8:8.
23. Ozbey G, Yasar Y, Demiroren K, Özeran İH. Prevalence of *Helicobacter pylori* in children in Eastern Turkey and molecular typing of isolates. Braz J Microbiol 2015;46(2):505-11.
24. Salles-Montaudon N, Dertheil S, Broutet N, Gras N, Monteiro L, De Mascarel A, et al. Detecting *Helicobacter pylori* infection in hospitalized frail older patients: The challenge. J Am Geriatr Soc 2002;50(10):1674-80.
25. Peterson WL, Graham DY. *Helicobacter pylori*, pp: 732-745. In: Feldman M, Scharschmidt and Sleisenger (eds). Gastrointestinal and Liver Disease. 2004, W. B. Saunders Company Pennsylvania.
26. de Martel C, Parsonnet J. *Helicobacter pylori* infection and gender: A meta-analysis of population-based prevalence surveys. Dig Dis Sci 2006;51(12):2292-301.
27. Ozaydin N, Turkyilmaz SA, Sanda Cali S. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* in Turkey: A nationally-representative, cross-sectional, screening with the 13C-Urea breath test. BMC Public Health 2013; 13:1215.
28. Fich A, Carel RS, Keret D, Goldin E. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in the Israeli population. Eur J Gastroenterol Hepatol 1993;5(5):339-41.
29. Agah S, Khedmat H, Ghamar-Chehred ME, Hadi R, Aghaei A. Female gender and *Helicobacter pylori* infection, the most important predisposition factors in a cohort of gastric cancer: A longitudinal study. Caspian J Intern Med 2016;7(2):136-41.
30. Ycel T, Aygin D, şen S, Ycel O. The prevalence of *Helicobacter pylori* and related factors among university students in Turkey. Jpn J Infect Dis 2008;61(3):179-83.

31. Yu CJ, Yan P, Yee LY. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection among patients attending gastroenterology endoscopy unit at Serdang Hospital. Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences 2015;11(1):11-7.
32. Khalifa MM, Sharaf RR, Aziz RK. *Helicobacter pylori*: A poor man's gut pathogen? Gut Pathogens 2010;2(1):2.
33. Cheng L, Tan L, Zhang L, Wei S, Liu L, Long L, et al. Chronic disease mortality in rural and urban residents in Hubei Province, China, 2008-2010. BMC Public Health 2013;13:713-22.
34. Wen X, Wen D, Yang Y, Chen Y, Wang G, Shan B. Urban-rural disparity in *Helicobacter pylori* infection-related upper gastrointestinal cancer in China and the decreasing trend in parallel with socioeconomic development and urbanization in an endemic area. Ann Glob Health 2017;83(3-4):444-62.