

# "Heliobacter Pylori" Saptanmasında Kültür, Gram Boyama, Üreaz ve Histolojik Değerlendirmenin Geçerliliği

## USEFULNESS OF CULTURE, HISTOLOGY, GRAM'S STAINING AND UREASE TESTING IN THE DETECTION OF HELIOBACTER PYLORI

Yard.Doç.Dr.Nadir KAYA\*, Dr.Ercüment OVALI\*, Dr.Fatma SAVRAN\*\*, Dr.Sancar BARIŞ\*\*\*,  
İnt.Dr.Metin ESER\*\*\*\*, Prof.Dr.Sait KAPICIOĞLU\*

»19 Mayıs Üniv. Tıp Fak. İç ilası. ABD. "Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji ABD, \*\*Patoloji ABD, \*\*\*»Dönem VI Öğrencisi

### ÖZET

*Üst gastrointestinal sistemde Heliobacter pylorinin (HP) saptanması için çeşitli testler kullanılmaktadır. Endoskopisi yapılan 85 hastanın antral biopsi örneklerinde HP araştırıldı. Kültür, hemoloksilen eosin, gram boyama ve üreaz testi olmak üzere 4 test kullanıldı. Herbiri sensitivite ve spesiviteyönünden değerlendirildi.*

*Üreaz testinin diğerlerinden daha az duyarlı ve özgül olduğu saptandı. Diğerlerinin özgülüğü ve duyarlılığı ise duyarlılığı az olan kültür hariç %100'e yakındı.*

*Gram boyama ucuz kolay ve hızlı olması gibi avantajları nedeniyle endoskopik HP saptanması için önerilebilir.*

Anahtar Kelimeler: Heliobacter pylori, Kültür, Gram boyama. Üreaz. İlemtoksilen eosin.

T Klin Gastroenterohepatoloji 1991, 2: 84-87

### SUMMARY

*Several tests have been described which detect the presence of Heliobacter pylori (HP) in the human upper gastrointestinal tract. Antral biopsies from 85 endoscopies were evaluated for the presence of HP. Four tests were used: Culture, Hematoxylin and eosin staining gram's staining and urease test. Sensitivity and specificity of each was evaluated. Urease test was less sensitive and specific than the others. Sensitivity and specificity of the other tests were found to be near 100%, except for culture which was less sensitive.*

*With the advantage of lower cost, ease and rapidity of performance, gram's staining is recommended for the endoscopic evaluation for HP.*

Key Words: Heliobacter pylori, Culture, Gram's staining, Urease hematoxylin-eosin staining.

Turk J Gastroenterohepatol 1991, 2: 84-87

Warren ve Marshall tarafından antral gastrik mukozada ilk kez gösterildiği 1983 yılından beri Helicobacter pylori (HP)'in üst gastrointestinal sistem hastalıklarının etiolojisinde rolü olduğuna dair çalışmalar yapılmaktadır (1). Geniş serilerde gastrit, duodenit, peptik ülser tanısı alan olgularda HP saptandığı gösterilmiştir (2-8).

Geliş Tanlı: 12.2.1991

Kabul Tarihi: 303.1991

Yazışma Adresi: Dr.Nadir KAYA  
19 Mayıs Üniv. Tıp Fak. İç Hasi. ABD  
SAMSUN

Gasirik mukozada HP tetkiki için çeşitli tanısal metotlar kullanılmaktadır. Kültür ile organizmayı üretmek mümkün olabildiği gibi (9-11), histolojik inceleme için Warlhin Starry, gram, hemotoksilen eosin, modifiye Gicmsa tekniği (12), akrinin oranj (13), periyodik asil sehiff (PAS) boyları kullanılmaktadır. Ayrıca immüno-sitokimyasal teknikler (14), faz kontrast (15) ve elektron mikroskopisi ile de HP'i saptamak mümkündür.

Üreaz aklivitesi için jel, sıvı ve nefes testleri vardır (16-19). ELİSA (enzymc linked immunoabsorbent assay) ve kompleman fiksasyonuyla serum-

da HP'c karşı Ig G ve Ig M antikorları saptamak mümkündür (20,21). Her metodun kendine göre avantajları ve dezavantajları vardır.

Çalışmamızda antral biopsi alınan 85 hastada HP tespiti için kültür, gram boyama, üreaz testi ve hemotoksilen cozin boyası ile histolojik değerlendirme yapılmış, bu testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü araştırılmıştır.

### MATERYEL VE METOD

Çalışma 1990 Mayıs Haziran aylarında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji ünitesinde endoskopisi yapılan yaşları 18-72 arasında (median yaş 45) olan 41 kadın 44 erkek, toplam 85 hastada yapıldı.

Endoskopi tüm olgularda Olympus xQ10 tip panendoskop ile yapıldı. Acil endoskopiler ve pıhtılaşma bozukluğu olanlar çalışma dışı tutuldu. Endoskopi yapılan tüm olgulardan HP için antral biopsiler, pilorun4cm proksimalinden ve küçük kurtatür tarafından 4 adet olarak alındı. Örnekler gram boyası ve üreaz için steril petri kutusuna, histolojik tetkikler için %10'luk formalinc, kültür için steril serum fizyolojik içine konuldu. Endoskop her işlem öncesi dezenfektan solüsyon Gigasept (Schülke & Mayr GmbH) ile temizlendi. Endoskopik bulgular endoskopist tarafından değerlendirildi.

**Kültür:** 22 olguda örnekler steril şartlarda içerisinde vankomisin, anifotrisin ve trimelhoprim-sulfamelhaksazol bulunan kanlı besi yerine ekilip anaerob jar içine konuldu ayrıca içine mikroacrofilik ortam sağlamak amacıyla Campy-BAP kiti yerleştirildi. 37°C'de etüvde enkübe edildi. 3 ve 7. günlerde kontrol edilerek üreme değerlendirildi. Şüpheli kolonilerden gram boyası için örnekler alındı, biyokimyasal testler; üreaz, katalaz, oksidaz, glukoz, indol, hidrojen sülfür (H<sub>2</sub>S) çalışıldı.

**Üreaz testi:** Tüm olgularda örnekler Christensen-üre besi yerine ekildi. 24 saat içindeki renk değişimi gözlemlendi. Pembeye dönüşüm pozitif olarak kabul edildi. İlk 3 saatteki renk değişimleri daha anlamlı bulundu.

**Gram boyama:** Tüm olgularda örnekler direkt lam üzerine yayılarak gram boyası yapıldı. Kıvrık, spiral, martı kanadı şeklindeki gram negatif mikroorganizmalar tanımlandı.

**Histoloji:** Tüm olgularda histolojik tetkik için antral doku Hematoksilen eosin ile boyandı. His-

tolojik değerlendirmeler olguların diğer HP sonuçlarından lamamiyle habersiz, bir patoloğ tarafından yapıldı ve mukozal hücre yüzeylerindeki karakteristik mikroorganizmalar 100x immersiyon mikroskopisi ile değerlendirildi.

HP değerlendirilmesi: Kültürün tek başına pozitifliği veya diğer testlerden ikisinin pozitifliği HP pozitifliği için esas alındı.

Uygulanan metodların birbirleri ile karşılaştırılması sensitivite ve spesifite testleri ile yapıldı.

### SONUÇLAR

Çalışmaya alınan tüm olgularda gram boyama, üreaz testi, histolojik değerlendirme yapılırken 22 olguda kültür ile HP araştırıldı.

Çalışılan 85 olgunun 6Tinde HP pozitif 24'ünde HP negatif olarak saptandı.

Üreaz testi 85 olguda çalışılmış, 44 olgu gerçek pozitif, 6 olgu yalancı pozitif, 18 olgu gerçek negatif, 17 olgu yalancı negatif olarak bulundu. Duyarlılığı %71 özgüllüğü %75'dir.

Gram boyama 85 olguda çalışılmış 60 olgu gerçek pozitif, 1 olgu yalancı pozitif, 23 olgu gerçek negatif, 1 olgu yalancı negatif olarak bulunmuştur. Duyarlılığı %98, özgüllüğü %95'dir.

Histolojik değerlendirme 85 olguda yapılmış 59 olgu gerçek pozitif, 2 olgu yalancı pozitif, 22 olgu gerçek negatif, 2 olgu yalancı negatif olarak bulunmuştur. Duyarlılığı %96 özgüllüğü %91'dir.

Kültür 22 olguda yapılabilmemiş, 13 olgu gerçek pozitif, 3 olgu gerçek negatif, 6 olgu yalancı negatif olarak bulunmuştur. Duyarlılığı %68, özgüllüğü %100'dür.

Tablo Tdc uygulanan testlerin gerçek pozitif,ncatifliği ve yalancı pozitif, negatifliği ile duyarlılıkları ve özgüllükleri gösterilmiştir.

### TARTIŞMA

İlk kez 1983 yılında, Warren ve Marshall (1) antral mukozada spiral gram negatif mikroorganizmayı tanımladılar. Prclorik bölgede yerleşmesi ve biyokimyasal özellikleri ile Campylobacter grubuna benzediğinden bu organizma Campylobacter pylori olarak adlandırıldı. Daha sonra yapılan çalışmalar Campylobacter pylorinin bir çok üst gastrointestinal sistem hastalığıyla birlikte olduğunu ve bu hastalıkların patogeneğinde rolü olabileceğini gösterdi

Tablo 1. HP Değerlendirmesinde Testlerin Karşılaştırılması

	Üreaz	Gram	Histoloji	Kültür
Sayı	85	85	85	22
Gerçek (+)	44	60	59	13
Gerçek (-)	18	23	22	3
Yalancı (+)	6	1	2	-
Yalancı (-)	17	1	2	6
Duyarlılık	%71	%98	%96	%68
Özgüllük	%75	%95	%91	%100

(2-8). Günümüzde morfolojisi, aşırı üreaz aktivitesi, yağ asili içeriği ve önemli kemotaksonomik markerler nedeniyle diğer campylobacter grubundan farklı olduğu saptanmış ve bu yeni bakteriyel cinse helicobacter pylori adı verilmiştir (8).

Gastrik epitelde HP'nin tanımlanabilmesi için değişik metodlar kullanılmaktadır. Uygun kültür teknikleriyle HP %80-90 üretilmektedir (9). HP kültürü 2-5 gün içinde sonuç vermektedir. Değişik serilerde kültür duyarlılığının %70-90 arcamda özgüllüğünün ise %100 olduğu bildirilmektedir (22). Çalışmamızda duyarlılık %68 özgüllük %100 olarak saptanmıştır. Mikrobiyolog gerektirmesi, uzun zaman alması, kontaminasyon riskinin fazla olması nedeniyle uygulanması zordur.

HP biopsi örneklerinde histolojik olarak tanımlanabilmektedir. Histolojik değerlendirme Warthin-Starry, hematoksilin-eosin (HE), Giemsa, akridin orange, Brovns-Hopps boyaları ile patologlar tarafından yapılmaktadırlar (12-14,23). Yapılan araştırmalarda HE ile HP değerlendirilmesinde duyarlılık %88, özgüllük ise %91 olarak bulunmuştur (22). Çalışmamızda ise duyarlılık %96 özgüllük %91 olarak bulunmuştur.

Gram boyama HP tanısında kullanılan ucuz ve hızlı bir yöntemdir (24). Çalışmamızda duyarlılık %98, özgüllük %95 olarak saptanmıştır.

HP tanısı, üreaz testi ilede hızlı ucuz ve kolay olarak konulabilmektedir. Üreaz aktivitesi CLO test (campylobacter like organism test) veya MBUT (microtiter biopsy urease test) ile tespit edilebildiği gibi non-invaziv nefes testi ilede gösterilebilmektedir (19,22,24,25). Üreaz aktivitesi ile HP değerlendirmesinde CLO test, MBUT veya Christensen üre besiyeri kullanılan çalışmalarda bu testin duyarlılığı %89-98, özgüllüğü %91-100 arasında bulunmuştur (22,24). Çalışmamızda Christensen-üre besiyerinde

üreaz aktivitesi bakılmış, duyarlılık %71, özgüllük %75 oranında düşük olarak bulunmuştur.

Ayrıca, HP tanısı için ELİSA yöntemiyle serumda ve gastrik sıvıda HP'ye karşı oluşmuş olan yüksek antikor titresinin varlığı gösterilebilmektedir (20,26). Antikor titresini gastrik enfeksiyon varlığı ile ilişkili olup bakteri eradikasyonu sonrası düşmektedir (27).

Çalışmamızda HP tanısı için kullandığımız testlerden histolojik değerlendirmenin ve gram boyamanın duyarlılık ve özgüllüğünün diğerlerinden yüksek olduğu saptandı. Özellikle gram boyamanın aynı zamanda kolay, ucuz, hızlı olması HP tanısı için öncelikle düşünülmesi gerektiğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

1. Warren JR, Marshall BJ, Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *lancet*. 1983; 1: 1273-5.
2. Scubbert TT, Schnell GA: Prevalance of Campylobacter pylori in patients undergoing upper endoscopy. *Am J Gastroenterol*. 1989; 84: 637-42.
3. Blaser MJ: Gastric Campylobacter like organism, gastritis and peptic ulcer disease. *Gastroenterology*. 1987; 93: 371-83.
4. Graham DY: Campylobacter pylori and peptic ulcer disease. *Gastroenterology*. 1986; 96: 615-25.
5. Price AB, Levi J, Dolby JM, et al: Campylobacter pyloridis in peptic ulcer disease. *Gut*. 1985; 26: 1183-8.
6. Rauws AJ, Langenberg W, Houthoff ILI, Zanen HC, Tytgat GNJ: Campylobacter pyloridis associated chronic active antral gastritis. *Gastroenterology*. 1988; 94: 33-40.
7. Dooley CP, Mc Kenna D, Humphreys II, et al: Histological gastritis in duodenal ulcer *Am J Gastroenterol* 1988; 83: 278-82.
8. Chamberlain MJ, Peura CD: Campylobacter (helicobacter) pylori. Is peptic disease a bacterial infection *Arch Intern Med*. 1990; 150: 951-5.

9. Price AB, Levi J, Dolby JM et al: Campylobacter Pyloridis in peptic ulcer disease: Microbiology, Pathology and scanning electron **microscopy**. Gut. 1985, 26: 1183-8.
10. Megraud E, Bonnet E, Gamier M et al: Characterization of Campylobacter pyloridis by culture, enzymatic profile, and protein content. J Clin Microbiol. 1985, 22: 1007-10.
11. Goodwin CS, Blincow ED, Warren JR, et al: Evaluation of cultural techniques for **isolating Campylobacter** pyloridis from endoscopic biopsies of gastric mucosa. J Clin Pathol. 1985,38:1127-31.
12. Gray SE, Wyatt .IE, Rathbone B.I: Simplified techniques for identifying Campylobacter pyloridis. J Clin Pathol. 1986, 39: 1279-80 (Utter).
13. Walters ET, Budin RE, Paull G: Acridine-orange to identify camplobacter pyloridis in formalin fixed, paraffin-embedded gastric biopsies. lancet. 1986, 1: 42 (Letter).
14. Barbosa AJA, Queiroz. DMM, Mendes EN et al: **Immunocytochemical** identification of **campylobatccr** pylori in gastritis and correlation with culture. Arch Pathol tab Med. 1986, 112:523-5.
15. Pinkard KJ, Harrison B. Capstick JA: Detection of **Campylobacter** pyloridis in gastric mucosa by phase contrast microscopy. J Clin Pathol. 1986, 39: 112-3.
16. Morris A, Mc Intyre D, Rose T et al: Rapid diagnosis of Campylobacter pyloridis infection. lancet. 1986, 1: 149 (Letter).
17. Owen RJ, Martin SR. Borman P: Rapid urea hydrolysis by gastric Campylobacters, lancet. 1985, 1: 111 (tatter).
18. Hazel SL, Borody 'EI, Gal A. et al: Campylobacter pyloridis gastritis. Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Am J Gastroenterol 1987, 82: 292-6.
19. Graham DY, Evans D.I, Alpert EC et al: Campylobacter pylori detected noninvasive^ by breath test. lancet. 1987, 1: 1174-7.
20. Booth E, Holdstock G, MacBridge II. et al: Clinical importance of Campylobacter pyloridis and associated serum Ig G and IgA antibody responses in patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy. J Clin pathol. 1986, 39: 215-9.
21. Goodwin CS, Blincow E, Peterson G. el al: Enzyme-linked immunosorbent assay for Campylobacter pyloridis: Correlation with presence of C. pyloridis in the gastric mucosa. J Infect Dis. 1987, 155: 488-94.
22. Schrell GA, Schubert 'IT: Usefulness of culture, histology and urease testing in the detection of Campylobacter pylori. Am J Gastroenterol. 1989,84: 133-7.
23. Madam E, Kemp J, Westblom TU. et al: Evaluation of staining methots of identifying Campylobacter pylori. Am J Clin Pathol. 1988,90:453-8.
24. Mc Nulty C A M, Dent JC, Uff .IS, Gear MWE, Wilkinson SP: Detection of Campylobacter pylori by the biopsy urease test: an assessment in 1445 patients. Gut. 1989, 30: 1058-62.
25. Marshall BJ, Surveyor I. Fifteen minute urea-C14 breath test for the diagnosis of Campylobacter associated gastritis. Gastroenterology. 1987,92: 1518.
26. Martin DF, Montgomery E, Dobck AS, Patrissi GA, Peura DA: Noninvasive detection of histologic gastritis. Gastroenterology. 1988, 94: A285 (abs).
27. Vaira D, Holton J, Cairns SR: Antibody titers to Campylobacter pylori after treatment for gastritis. Br Med J. 1988, 297: 397.