

# Mide biopsilerinde helicobacter pylori'nin varlığının üreaz ve histopatolojik yöntemlerle değerlendirilmesi

Dr. Murat B. ALKANAT, Dr. Osman ZEKİOĞLU, Dr. Ahmet AYDIN, Dr. Müge TUNÇYÜREK

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim ve Gastroenteroloji, Bilim Dalı. İzmir

## ÖZET

*Helicobacter pylori* (HP) üst gastrointestinal sistem (GIS) yakınması olan hastaların çoğunda mide mukozasını enfekte eden gram negatif, spiral şeklinde bir bakteridir. Bakteri, oluşturduğu bir proteaz yardımıyla glikoprotein yapısındaki mide mukusunu parçalar ve asit mide içeriğinin, mucus-bikarbonat bariyerini geçerek mukozayı irrite etmesine neden olur. Endoskopik mide biopsileri ile alınan dokudaki bakterilerin gösterdiği üreaz aktivitesi klinikte tanısal bir test olarak kullanılmaktadır. Dokuda bakteri hematoksilen-eosin ve diğer histoşimik yöntemler (Warthin-Starry, Toluidin O, Giemsa gibi) yanı sıra monoklonal antikorlarla immunohistoşimik olarak da gösterilebilmiştir. Çalışmamızda bu iki yöntemin birbiri ile korelasyonunu saptamaya yönelik olarak, 1975 endoskopik biopsi materyalini üreaz aktivitesi ve dokuda HP varlığı yönünden histoşimik yöntemle inceledik (Toluidin-O boyası ile). Olgu grubumuzda üreaz aktivitesi ve histoşimik yöntem %77 oranında paralellik göstermekteydi %23 olguda ise heriki yöntem HP'nin varlığı konusunda farklı sonuçlar verdi. Olgu grubunun yaş, cins, histopatolojik tanı yönünden özellikleri ve heriki yöntemin karşılaştırılmasına dayanan diğer kaynak verileri tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: **Helicobacter pylori, üreaz testi, gastrit**

**HELICOBACTER** pylori (H.P) üst GIS yakınması olan hastaların çoğunda mide mukozasını enfekte eden gram negatif, spiral şeklinde bir bakteridir. Bakteri, oluşturduğu bir proteaz yardımıyla glikoprotein yapısındaki mide mukusunu parçalar ve asit mide içeriğinin, mucus-bikarbonat bariyerini geçerek mukozayı irrite etmesine neden olur (1,6,7,10,13,14). Endoskopik mide biopsileri ile alınan dokudaki bakterilerin gösterdiği üreaz aktivitesi klinikte tanısal bir test olarak kullanılmaktadır (9,17). Aşağıda ayrıntılı olarak tanımlanan bu test hızlı ve ucuz oluşuyla pratik kullanımda faydalı olmaktadır. Çalışmamızda biopsi materyalindeki üreaz aktivitesi ile histoşimik incelemede bakteriye rastlanması arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçladık.

HP benzeri bakteriler mide ve gastrik metaplazi

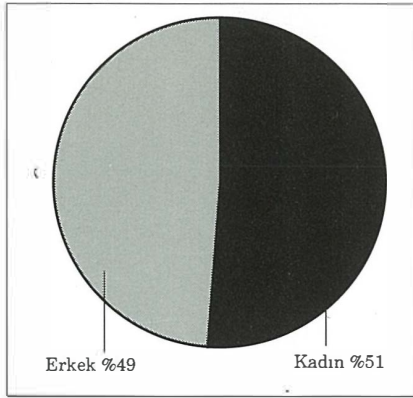
## SUMMARY: Detection of helicobacter pylori in gastric biopsies with urease test and histopathologic assays

*Helicobacter pylori* (HP) is a gram negative, spiral shaped microorganism, which is found in the gastric mucosa of most of the patients with upper gastrointestinal system (GIS) complaints. It decomposes gastric mucus with the help of a protease; thus acidic gastric contents pass the mucus-bicarbonate barrier and affect gastric mucosa. The urease activity of HP in endoscopic biopsy specimen is used as a diagnostic tool. HP was detected in biopsy materials immunohistochemically with monoclonal antibodies as well as haematoxyline-eosin and other conventional histochemical methods. In the present study we attempted to correlate the results of urease test and histochemical methods (Toluidin-O) in 1975 endoscopic biopsies. Both diagnostic procedures were parallel to each other in 77% of our series whereas conflicting results have been obtained in 23% of the cases.

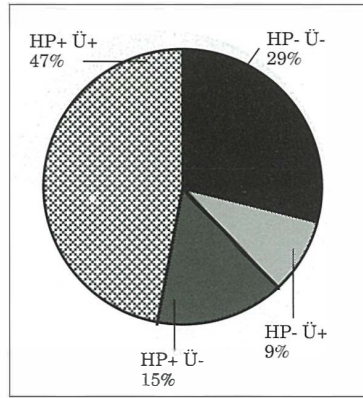
Key Words: **Helicobacter pylori, urease test, gastritis**

gösteren mide dışı mukozalarda (duodenum, oesophagus gibi) yerleşebilmekte (2,3,20,21) ve çoğu kez bulunduğu yerde değişen derecelerde inflamasyona yol açmaktadır. Dokuda bakteri hematoksilen-eosin ve diğer histoşimik yöntemler (Warthin-Starry, Toluidin O, Giemsa gibi) yanı sıra monoklonal antikorlarla immunohistoşimik olarak da gösterilebilmiştir (4,8,11,12,16). HP'nin mikrobiyolojik olarak kültürü güç de olsa yapılabilmekte, bazı çalışmalarda kültür sonuçları en güvenilir tanı yöntemi olarak verilirken (5,19), diğer bazılarında sensitivitesinin düşüklüğünden sözedilmektedir(8). HP'ye karşı vücudun immun yanıtının bakterinin yüzeyinin IgA molekülleriyle kaplanması şeklinde olabileceği düşünülmüş ve HP indirekt immunperoksidaz yöntemiyle IgA ile kaplanmış olarak görüntülenmiştir (22).

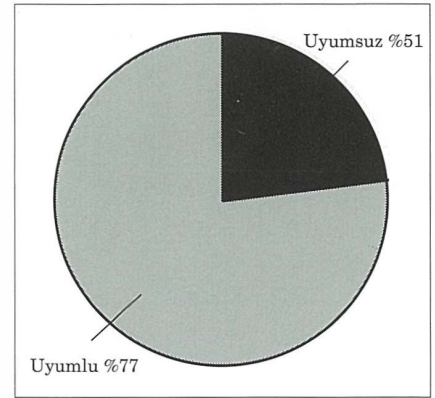
Mide kanserinde HP'nin mukozada bulunabileceği olguların %75'inde kanıtlanmıştır (15). Yine bakterinin kronik irritasyonunun mukoza ile ilişkili lenfoid dokuyu (mucosa associated lymphoid tissue-MALT) stimule ederek, özellikle B tipi lenfomalara yol açabileceği bildirilmektedir (18).



Grafik 1. Olgularda Kadın/Erkek oranı.



Grafik 2. Histoşimi-Üreaz ilişkisi.



Grafik 3. Histopatoloji-Üreaz uyumu.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 1993 ve 1994 yılının ilk yarısında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Anabilim Dalı'na üst GIS yakınması ile başvurarak, endoskopik inceleme sonrası endoskopik mide biopsisi uygulanmış olgulardan hem üreaz testi hem de histoşimik olarak HP benzeri bakterisi araştırılmış 1975'i değerlendirildi. Tüm biopsilere rutin hematoksil-eosin yanısıra Toluidin O(11) boyası uygulandı.

Toluidin O boyası için tamponlar:

1- M/15 dibazik sodyum fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) 9.465 gr. 1 litre distile suda çözüldü.

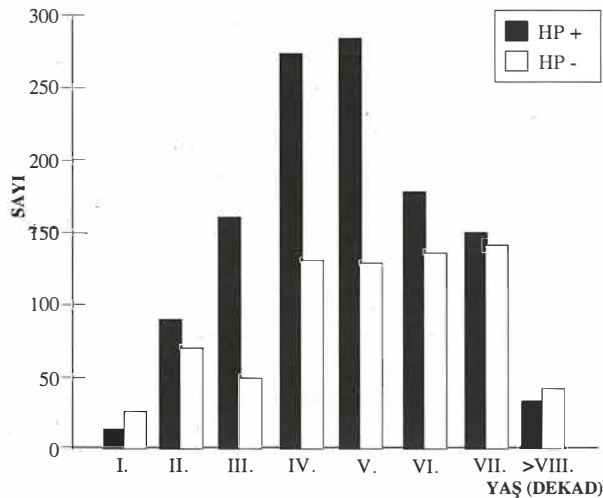
2- M/15 potasyum asit fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 9.08 gr. 1 litre distile suda çözüldü.

pH 6.8 olması için heriki solüsyondan 25'er ml. alındı ve 1 ml. %1'lik stok toluidin blue solüsyonu ile karıştırıldı. Bu boya ile 10-15 dakika boyanan kesitler sudan geçirilip, dehidrate edilerek balsam ile kapatıldı.

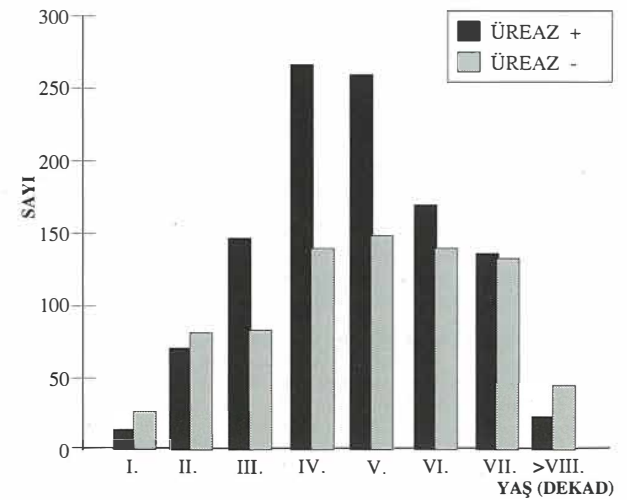
Endoskopi sırasında yapılan bir dakikalık hızlı üreaz testi için pH 6.8 olacak şekilde ayarlanmış deionize su içinde %10'luk taze üreaz çözeltisi ve indikatör olarak iki damla %1'lik fenol kırmızısı kullanıldı. Endoskopi ile alınan parça hemen Eppendorf tüpüne konmuş bu çözelti içine atıldı. Pozitif bir reaksiyonda bir dakika içerisinde çözeltinin rengi sarıdan pembeye dönüştü.

## SONUÇLAR

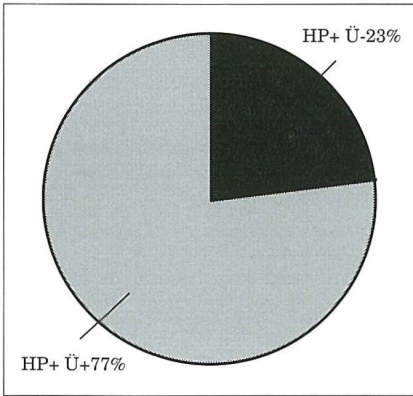
Olgularımızın 975'i erkek, 1000'i kadın hastaydı ( $E/K = 0.975$ ). Tüm olgularda ortalama yaş 43.98 yıl, en genç olgu 3 en yaşlı olgu 90 yaşındaydı. Histoşimik yöntemle HP pozitif olgu sayımız 1243 (%63) olup, ortalama yaş 43.96 yıl, en genç olgu 6 en yaşlı olgu 82 yaşındaydı. 953 olguda (%48) hem üreaz testi hem de histoşimik bulgular HP varlığını destekledi. Olguların 563'ünde heriki test negatif sonuçlandı. Tüm olguların 459'unda (%23.2) üreaz testi ile histoşimik yöntem zıt sonuçlar ortaya koydu. Heriki testin aynı yönde olduğu olgu sayısı ise 1516(%76.7) idi.



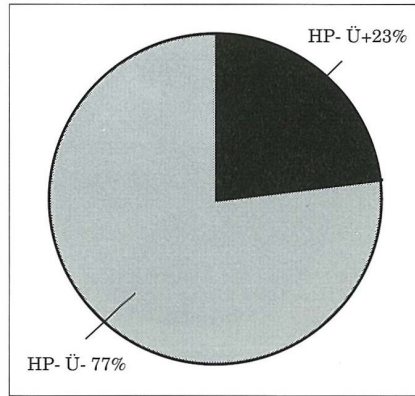
Grafik 4. Yaş gruplarında HP pozitifliği.



Grafik 5. Yaş gruplarında üreaz pozitifliği.



Grafik 6. Yanlış negatif üreaz.



Grafik 7. Yanlış pozitif üreaz.

## TARTIŞMA

Endoskopi mide biopsilerine HP'nin varlığının araştırılmasında kullandığımız histoşimik yöntemin duyarlılığı bu araştırmalarda standart kabul edilen kültür yönteminin duyarlılığına hemen hemen eşit kabul edilmektedir.

Histoşimik yöntemde yanlış negatif sonuçların beklenmiş dokularda bakterinin ortadan kalkması durumunda alınabileceği, bakterinin mukozada yama tarzında dağılmış olmasının ise beklenenin aksine yüksek oranda yanlış negatif sonuçlara yol açmadığı bildirilmektedir (19).

Kısa sürede sonuç veren üreaz testinin duyarlılığı ise kültür yöntemi ile karşılaştırıldığında en iyi şartlarda %90 olarak bildirilirken, bazı serilerde bu oranın %58'e kadar düştüğü bildirilmektedir (9). Bizim çalışmamızda kullandığımız heriki yöntemin paralellliği %76.7 idi. Heriki yöntemin birbiriyle çeliştiği 459 olgunun %63'ünde histoşimik yöntem pozitif iken hızlı üreaz testi negatif sonuç verdi. Bu durumda histoşimik yöntemle HP pozitif bulduğumuz olgu sayısı hızlı üreaz yönteminde

HP pozitif olanlardan daha yüksekti.

Üst GIS yakınmaları ile başvuran hastalarda ratladığımız %63 (histoşimik yöntemle) oranındaki HP pozitifliği bakterinin yolaçacağı morbidite gözönüne alındığında üzerinde durulması gereken ciddi bir sorundur. Bu sorunun çözümünde ilk basamak midede kolonize olmuş HP'nin tanınabilmesi, ikinci basamak da hızlı bir şekilde sağaltıma gidilmesidir. Spesifitesi nedeniyle olduğu kadar antibiyotik rezistansının saptanabilmesi nedeniyle de (5) tanıda en güvenilir yöntem olan kültür yöntemi diğer yöntemlere göre daha uzun sürede sonuç verdiğinden, diğer tanı yöntemlerinden de yararlanılarak en kısa sürede sağaltıma geçilmesi gerekmektedir. Bu diğer tanı yöntemleri arasında sensitivitesi hemen hemen kültüre eşdeğer olan histopatolojik yöntem ile en kısa sürede sonuç veren hızlı üreaz testlerinin birlikte uygulanmasının sağaltıma daha erken başlanmasını sağlayacağını, böylelikle üst GIS yakınmalı olgularımızdaki yüksek HP pozitifliğinin gelecekte daha düşük oranlarda karşımıza çıkacağını düşünüyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Anderson LP, Holck S, Povlsen CO, Elsborg L, Justesen T: Campylobacter pyloridis in peptic ulcer disease. Scand J Gastroenterol 1987; 22: 219-224.
2. Anderson LP, Holck S, Elsborg L, Justesen T: The helicobacter (campylobacter) pylori-colonized duodenal mucosa and gastric metaplasia. Apmis 1991; 99: 244-248.
3. Carrick J, Lee A, Hazell S, Ralston M, Daskalopoulos G: Campylobacter pylori, duodenal ulcer and gastric metaplasia: possible role of functional heterotopic tissue in ulcerogenesis. Gut 1989; 30: 790-797.
4. Engstrand L, Pahlson C, Schwan A, Gustavsson S: Monoclonal antibodies for detection of campylobacter pylori in biopsy: smears and frozen sections. Scand J Gastroenterol 1988; 23; 50-52,
5. Goodwin CS: Campylobacter pylori: detection and culture. (In "Campylobacter pylori and gastrointestinal disease. Ed: Rathbone BJ, Heatley RV) Blackwell scientific publications, Oxford 1990, pp: 60-62.
6. Hassall E, Dimmick JE: Unique features of helicobacter pylori disease in children. Dig Dis Sci 1991; 36: 417-423.
7. Johnston BJ, Reed PI, Ali MH: Prevalence of campylobacter pylori in duodenal and gastric mucosa-relationship to inflammation. Scand J Gastroenterol 1988; 23 (Suppl 142), 69-75.
8. Loffeld RJLF, Stobberingh E, Flendrig JA, Arends JW: Helicobacter pylori in gastric biopsy specimens. Comparison of culture, modified giemsa stain and immunohistochemistry. J Pathol 1991; 165: 69-73.
9. Mc Nulty Cam: Detection of Campylobacter pylori by the biopsy urease test. (In "Campylobacter pylori and gastrointestinal disease. Ed: Rathbone BJ, Heatley RV) Blackwell scientific publications, Oxford 1990, pp: 69-73.
10. Morson BC, Dawson IMP: Gastrointestinal pathology. Oxford, Blackwell Scientific Publications. 3. baskı 1990;
11. Negrini R, Lisato L, Cavazzini L, et al.: Monoclonal antibodies for specific immunoperoxidase detection of campylobacter pylori. Gastroenterology 1989; 96: 414-20.

12. Potters HVPJ, Loffeld RJLF, Stobberingh E, van Spreeuwel JP, Arends JW: Rapid staining of campylobacter pyloridis [letter]. *Histopathology* 1987; 11:1223.
13. Rathbone BJ, Wyatt JI, Heatley RV: Campylobacter pyloridis-A new factor in peptic ulcer disease? *Gut* 1986; 27; 635-641.
14. Sidebotham RL, Batten JJ, Karim Qn, Spencer J, Baron JH: Breakdown of gastric mucus in presence of helicobacter pylori. *J Clin Pathol* 1991; 44: 52-57.
15. Sipponen P, Kosunen TU, Valle J, Riihela M, Seppala K: Helicobacter pylori infection and chronic gastritis in gastric cancer. *J Clin Pathol* 1992; 45:319-323.
16. Slater B: Superior stain for helicobacter pylori using toluidine O [letter]. *J Clin Pathol* 1990; 43; 961.
17. Thillanayagam AV, Arvind AS, Cook RS, Harrison IG, Tabaqchali S, Farthing MJG: Diagnostic efficiency of an ultrarapid endoscopy room test for helicobacter pylori. *Gut* 1991; 32; 467-69.
18. Wotherspoon AC, Hidalgo CO, Falton MR, Isaacson PG: Helicobacter pylori-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991; 8776; 1175-1176.
19. Wyatt JI, Gray SF: Detection of Campylobacter pylori by histology. (In "Campylobacter pylori and gastrointestinal disease. Ed: Rathbone BJ, Heatley RV) Blackwell scientific publications, Oxford 1990, pp: 63-68.
20. Wyatt JI, Rathbone BJ, Dixon MF, Heatley RV: Campylobacter pyloridis and acid induced gastric metaplasia in the pathogenesis of duodenitis. *J Clin Pathol* 1987; 40; 841-848.
21. Wyatt JI, Rathbone BJ, Sobala GM, et al.: Gastric epithelium in the duodenum: Its association with helicobacter pylori and inflammation. *J Clin Pathol* 1990; 43; 981-986,
22. Wyatt JI, Rathbone BJ: Immune response of the gastric mucosa to campylobacter pylori. *Scand J Gastroenterol* 1988; 23 (Suppl 142) 44-49.