

# Dışkı Örneklerinde *Helicobacter pylori* Antijeninin Saptanmasında ELISA ve İmmünokart Testinin Karşılaştırılması

Özden BÜYÜKBABA-BORAL(\*), Nevriye GÖNÜLLÜ(\*\*), Mine ANĞ-KÜÇÜKER(\*)

(\*) İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
(\*\*) İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü

## ÖZET

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalına gönderilen ve *Helicobacter pylori* şüpheli olan 50 hastanın dışkı örneklerinde *H.pylori* antijeni aranmıştır. Örnekler Premium Platinum HpSA ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) ve Simple *H. pyl* immünokart testi ile paralel olarak çalışılmıştır. Çalışılan 50 hastanın 18'inde *H.pylori* antijeninin ELISA ile pozitif bulunmuştur. Ancak HpSA ELISA ile negatif sonuç veren 32 hastanın 23'ü immünokart testi ile pozitif sonuç vermiştir. Bu çalışmada HpSA ELISA altın standart olarak kabul edildiğinde, immünokart testinin duyarlılığı %100, özgüllüğü %28, pozitif yorum gücünün %43, negatif yorum gücünün ise %100 olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** *Helicobacter pylori*, tanı, dışkı antijeni

## SUMMARY

### Comparison of ELISA and Immunocard Assay in Detection of *H.pylori* Antigen in Stool Samples

*Helicobacter pylori* antigens were investigated in the stool samples of 50 patients who have submitted to Istanbul University, Faculty of Medicine, Department of Microbiology and Clinical Microbiology. Premium Platinum HpSA ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) and Simple *H.pyl* immuncart tests were carried out to all the samples. 18 of 50 patients were found to be *H.pylori* positive by ELISA, but 23 of 32 seronegative patients were found positive by immunocard. In this study, we concluded that in comparison with ELISA as a gold standard, the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the rapid *H.pyl* test were 100%, 28%, 43% and 100% respectively.

**Key words:** *Helicobacter pylori*, diagnosis, stool antigen

*Helicobacter pylori* çeşitli mide hastalıklarına neden olan bir bakteridir. Peptik ülserden, gastrite kadar değişen klinik tablolara neden olabildiği gibi, mide kanseri, mide mukozası ile ilişkili lenfoid doku lenfomasına da neden olması, günümüzde önemini arttırmaktadır (1). Gelişmiş ülkelerdeki bireylerin %40-50'sinde, gelişmekte olan ülkelerde ise %80-90'ında görülmektedir. *H.pylori* enfeksiyonunun tanısı için invazif ve noninvazif bir çok teknik kullanılmaktadır. İnvazif yöntemler; üreaz deneyleri, kültür, histoloji ve moleküler yöntemlerdir. Bu yöntemler, biyopsi örneği gerektirmesi, bazen üreaz aktivitesine sahip başka bakterilerin yanlış pozitif sonuçlara neden olabilmesi ve invazif yöntemlerin hastalar üzerindeki zorlukları düşünülerek, günümüzde çeşitli noninvazif yöntemler geliş-

**İletişim** : Özden Büyükbaba Borral  
e-posta obborral@yahoo.com

tirilmiştir. Bunlar, serolojik testler, üre soluk deneyi ve dışkıda *H.pylori* antijeni aramaya yönelik ELISA testidir (2,3). Ayrıca her laboratuvar koşulunda kullanılabilme avantajı olan spesifik monoklonal antikorların membrana bağlanması ile hazırlanan ve dışkıda *H.pylori* antijeni arayan kart testleri de ticari olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmada, bir çok araştırmacının kültür, histoloji gibi *H.pylori* enfeksiyonu tanısında altın standart olarak kabul edilen testlerle karşılaştırıldığında, duyarlılığın %90-100 ve özgüllüğünün %92-100 olduğu bildirilen HpSA ELISA ile yeni bir hızlı tanı kiti olan immünokart testinin duyarlılığı ve özgüllüğü araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, *H.pylori* enfeksiyonu ön tanısı ile

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na gönderilen 50 hastanın dışkı örneklerinde, Premium Platinum HpSA (Meridian Diagnostics, Cincinnati, Ohio, USA) ELISA kiti ve Simple H.pyl (Linear Chemicals, Barcelona, İspanya) immünokart testi ile *H.pylori* antijeni araştırılmıştır.

Dışkı örnekleri çalışma süresince -20°C'de bekletilmiştir.

İmmünokart testini uygulamak için aplikatör çubuk dışkıya daldırılarak numune alınmıştır. Aplikatör çubuk ile dışkı örneğinden pirinç tanesi büyüklüğünde örnek alınmış ve tüpün kapağı kapatılarak, iyice vortekslenmiştir. Tüpün ucu kırılarak immünokart testinin yuvarlak penceresine dışkı örneğinden dört damla damlatılıp yaklaşık 5 dakika beklenilerek sonuç gözle okunmuştur. Dışkı örneğinde *H. pylori* antijeni varlığında kit içindeki bulunan antijene özgül spesifik bir monoklonal antikor ile kaplanmış kolloidal lateks parçacıkları reaksiyona girerek, kromatografik bir reaksiyon sonucunda kırmızı bir bant halinde görülmüştür.

ELISA testi ise kit prosedürüne uygun yapılmış ve sonuçlar 450 nm'de okunarak değerlendirilmiştir.

## BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 50 hastanın 18'sinde (%36) HpSA ELISA ile *H.pylori* antijeni belirlenmiş, bu hastalarının tümü Simple *H.pyl* immünokart test ile de pozitif sonuç vermiştir. Ancak HpSA ELISA ile negatif sonuç veren 32 hastanın 23'ü Simple *H.pyl* immünokart test ile pozitif sonuç vermiştir. Bu çalışmada HpSA ELISA altın standart olarak kabul edildiğinde, immünokart testinin duyarlılığın %100, özgüllüğünün %28, pozitif yorum gücünün %43, negatif yorum gücünün %100, doğruluk oranının ise %54 olduğu belirlenmiştir. HpSA ELISA ile pozitif sonuç alınan 18 hastanın immünokart test ile pozitif sonuç verme süresinin 30 saniye ile 1.5 dakika arasında olduğu gözlemlenmiştir (Kullanım kılavuzunda Simple *H.pyl* immünokart test için pozitif bir sonuç için üst sınır süresi 5 dakika olarak bildirilmektedir).

## TARTIŞMA

Mide ve duodenal ülser gelişiminde önemli rolü olan

*H.pylori*'nin ayrıca, mide karsinomu gelişimi içinde predispozan bir bakteri olduğunu belirlenmesi, günümüzde tanısına yönelik testlerin hızla gelişmesine neden olmuştur. İnvazif testler; kültür, histoloji, hızlı üreaz testi ve PCR genellikle biyopsiye dayalı olmaları nedeni ile her hastada ve her hastane koşulunda sıklıkla kullanılmamaktadır. Noninvazif testler ise üre soluk deneyi ve *H.pylori* antijenini dışkı örneklerinde aramaya yönelik ELISA testleri, endoskopiye gereksinim olmaksızın ve altın standart olarak kabul edilen kültür yöntemlerine oldukça yakın bir duyarlılık ve özgüllükte olmaları nedeni ile sıklıkla kullanılmaktadır (4).

Bu çalışmada, *H.pylori* enfeksiyonu ön tanısı ile laboratuvarımıza gönderilen 50 hastanın dışkı örneklerinde rutin olarak HpSA ELISA *H.pylori* antijeni araştırılmış ve sonuçlar yurdumuzda yeni kullanıma sunulan *H.pylori* immünokart testi ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada invazif testlerle karşılaştırılmış, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek olan HpSA ELISA altın standart olarak değerlendirildiğinde, immünokart testin özgüllüğü çok düşük bulunmuştur. Birçok araştırmacının dışkıda *H.pylori* antijenini saptamaya yönelik ELISA testlerini, invazif testlerle yaptığı karşılaştırma çalışmaları aşağıda verilmiştir.

Sykora ve ark. (5) 91 çocuğun biyopsi örneklerini hızlı üreaz test ve histoloji ile incelemişler. 31 (%34.1)'inde *H.pylori* enfeksiyonu saptamışlardır. Bu çocukların 28'inin dışkı örneklerinde ELISA ile *H.pylori* antijenini belirlemişler ve duyarlılığın %90.3 olduğunu, buna karşılık histolojik inceleme ve hızlı üreaz test ile negatif bulunan 60 çocuğun dışkı örneklerinde ELISA *H.pylori* antijeni bulunamamıştır ve özgüllüğün %100 olduğu bildirmişlerdir.

Vaira ve ark. (6) multimerkezli bir çalışmada kültür, histoloji ve hızlı üreaz testi ile taranan 501 hastanın 272'sinde *H.pylori* enfeksiyonu belirlenmiş, bu hastaların 256'sında ELISA ile *H.pylori* antijeni pozitif bulunmuştur. İnfekte olmayan 219 hastanın ise 201'i HpSA ELISA ile negatif bulunmuştur. Bu çalışmada ELISA'nın duyarlılığı ve özgüllüğü %90 ve 95 olarak bulunmuştur.

Van Doorn ve ark. (3) ortalama yaşları 8.5 olan 106 çocukta kültür ve histolojik yöntemler ile *H.pylori*

enfeksiyonunu araştırmışlar ve bulgularını dışkıda *H.pylori* antijenini saptayan ELISA testi ile karşılaştırmışlardır. Kültür ve histolojik inceleme ile 30 çocukta *H.pylori* enfeksiyonu belirlenmiş, bunların tümü HpSA ELISA ile de pozitif bulunmuştur. HpSA ELISA duyarlılığının %100, özgüllüğünün ise %92 olduğunu saptamışlardır.

Rothenbacher ve ark. (1) dispeptik sendromları olan yaş ortalaması 12.6 olan 91 çocukta *H.pylori* enfeksiyonu varlığını, histoloji, hızlı üreaz test ve *H.pylori* dışkı antijen testi ile araştırmışlardır. 31 çocukta histoloji ve hızlı üreaz testi ile enfeksiyon belirlenmiş, 31 hastanın 28'inde *H.pylori* dışkı antijen test ile pozitif sonuç alınmış, duyarlılığın %90.3, özgüllüğün ise %100 olduğu gözlemlenmiştir.

Chang ve ark. (7) 62 hastada kültür, histoloji, hızlı üreaz testi, üre soluk testi ve ELISA ile dışkıda *H.pylori* antijenini araştırmışlardır. Kültür pozitifliği veya diğer testlerden en az ikisinin pozitifliği enfeksiyon varlığı olarak değerlendirilmiştir ve bu çalışmada 35 hastada *H.pylori* enfeksiyonu bildirilmiştir.

Gisbert ve ark. (2) PubMed veri bankası ve birçok kongrenin bu konu ile sonuçlarını toplayarak toplam (4769 hasta) 43 çalışmanın sonuçlarını değerlendirmiş ve ELISA HpSA antijen testinin tedavi görmeyen hastalardaki *H.pylori* enfeksiyonu tanısındaki doğruluğunu araştırmışlardır. Sonuç olarak, duyarlılığın %92.4, özgüllüğünün %91.9, pozitif yorum gücünün %92.1, negatif yorum gücünün %90.5 olduğunu saptamışlar ve *H.pylori* enfeksiyonu tanısı için dışkıda ELISA HpSA antijenini arama testinin iyi bir noninvazif yöntem olduğunu kabul etmişlerdir.

Bu çalışmada *H.pylori* enfeksiyonu için şüpheli olan hastaların dışkısında duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir test olan HpSA ELISA ile immünokart testinin duyarlılığı ve özgüllüğü karşılaştırılmıştır. ELISA testi altın standart olarak alındığında, immünokart testinin duyarlılığının yüksek olduğu, ancak özgüllüğünün düşük olduğu tespit edilmiştir.

İmmünokart test ile, özellikle ilk 1.5 dakikada pozitiflik alınan sonuçlarla, ELISA pozitifliğinin çoğunlukla uyumlu olduğu, 1.5 dakikadan sonra pozitiflik veren örneklerde ise immünokart testi ile yanlış pozitiflik oranının yükseldiği gözlemlenmiştir. Bu çalışmada, özellikle çoğu rutin laboratuvarlarda kullanımı kolay olan bu immünokart testlerinin, özellikle 1.5 dakikadan sonra pozitiflik veren sonuçlarının ELISA testi veya diğer yöntemler ile doğrulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- 1. Rothenbacher D, Bode G, Brenner H:** Dynamics of *Helicobacter pylori* infection in early childhood in a high-risk group living in Germany: loss of infection higher than acquisition. *Aliment Pharmacol Ther* 16: 1663 (2002).
- 2. Gisbert JP, Palares JM:** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by stool antigen determination: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 96: 2829 (2001).
- 3. Van Doorn OJ, Bosman DK, Van't Hoff BW, Taminiou JA, Ten Kate FJ, Van der Ende:** *Helicobacter pylori* stool antigen test: a reliable non-invasive test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 13: 1061 (2001).
- 4. Peitz U, Leodolter A, Kahl S, Agha-Amiri K, Wex T, Wolle K, Günther T, Steinbrink B, Malferteiner P:** Antigen stool test for assessment of *Helicobacter pylori* infection in patients with upper gastrointestinal bleeding. *Aliment Pharmacol Ther* 17: 1075 (2003).
- 5. Sykora J, Valeckova K, Hejda V, Varvarovska J, Stozick Y:** Accurate noninvasive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection using antigen determination in the feces in the pediatric population. *Cas Lek Cesk* 141: 425 (2002).
- 6. Vaira D, Malferteiner P, Megrand F, Axon AT, Deltennee M, Hirschl AM, Garbarrini G, O'Morain C, Garcia JM, Quina M, Tytgat GN:** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen based assay. HpSA European Study Group. *Lancet* 354: 30 (1999).
- 7. Chang MC, Chang YT, Sun CT, Wu MS, Wang HP, Lin JT:** Quantitative correlation of *Helicobacter pylori* stool antigen (HpSA) test with 13C-urea breath test (13C-UBT) by the updated Sydney grading system of gastritis. *Hepatogastroenterology* 49:576 (2002).