

Çocuklarda kronik tonsillit materyallerinde, giemsa boyası kullanılarak, *H. pylori* görülme sıklığı

Incidence of *H. pylori* in the tonsillar specimens of the children with chronic tonsillitis with Giemsa stain

Ali KURT¹, Rabia DEMİRTAŞ², Hilal BALTA³, Şenay ERDOĞAN DURMUŞ⁴, Emre AKARSU⁵

¹Sağlık Bilimleri Üniversitesi Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji, Erzurum, Türkiye

²Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Erzurum, Türkiye

³Aydın Devlet Hastanesi, Patoloji, Aydın, Türkiye

⁴Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Patoloji, İstanbul, Türkiye

⁵Elbistan Devlet Hastanesi/ Kahramanmaraş, Patoloji, Kahramanmaraş, Türkiye

ÖZ

Amaç: *H. pylori*'nin (Hp) insan midesinde kolonize olduğu kanıtlanmasına karşın oral mukozada, tonsil ve adenoidler gibi organlarda da görüldüğü bildirilmiştir. Midedeki varlığı ile gastrit, ülser, adenokarsinom gelişiminde etkili iken, tonsillerde ve adenoidlerdeki varlığı ile MALT lenfoma gibi malign hastalıklara öncülük edebileceği bildirilmiştir. Bu nedenle tonsillerde Hp görülme sıklığını araştırmayı amaçladık.

Yöntem: Cerrahi yöntemle çıkartılarak kronik tonsillit patolojik tanısı alan çocuk ve genç hastalara ait tonsillektomi materyallerinde histokimyasal yöntemle Hp varlığı araştırıldı. Hastanemiz Patoloji Laboratuvarına 1 Ağustos 2013 - 1 Ağustos 2017 tarihleri arasında gelerek incelenen tonsil materyallerine Giemsa boyası uygulandı.

Bulgular: Hastanemiz Patoloji Bölümünde son dört yılda incelenen 1- 18 yaşlardaki 68 hasta ele alındı. Bunlardan 28'i (%41,2) kadın, 40'ı (%58,8) erkekti. Ortalama yaş 9±4.02 hesaplandı. Materyallerden hazırlanan kesitler Giemsa boyası ile boyanarak mikroskopta incelendi, Hp arandı. Otuz bir hastaya ait tonsil materyalinde Hp belirlendi. Bunlardan 13'ünde (%19,1) tek taraflı, 18'inde (%26,5) ise çift taraflı mevcuttu. Kadın cinsiyette mevcut 28 hastadan 12'sinde (%42,9) mevcut olup 4'ünde (%14,3) tek, 8'inde (%28,6) çift taraflı mevcuttu. Erkek olan 40 hastadan 19'unda (%47,5) mevcut olup 9'unda (%22,5) tek, 10'unda (%25) çift taraflı mevcut olduğu görüldü.

Sonuç: Sonuç olarak, kadın, erkek önemli olmaksızın %45,6 Hp varlığı ve cinsiyete göre bakıldığında hafif erkek predominansı saptandı. İstatistiksel olarak SPSS 20.0 kullanılarak uygulanan ki-kare testi ile 1-18 yaş grubu kronik tonsillit tanılı hastalara ait tonsillektomi materyallerinde Hp varlığının yaş ve cinsiyetle doğrudan bir ilişkisinin bulunmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: *H. pylori*, tonsil, kronik tonsillit

ABSTRACT

Objective: Although *H. pylori* (Hp) colonisation in the gastric tissue has been proven, Hp has been also reported to be seen in tonsillar and adenoid tissues. While its presence in the gastric tissue is effective in the development of gastritis, peptic ulcer and adenocarcinoma, it has been reported that its presence in tonsillar and adenoid tissue may be a precursor of malignant diseases such as MALT lymphoma. Therefore, we aimed to investigate the incidence of *H.pylori* in tonsillar tissue.

Methods: The presence of *H. pylori* was investigated histochemically in the tonsillectomy materials of children and young patients who were diagnosed with chronic tonsillitis. Giemsa stain was applied to the tonsillar specimens examined in our hospital pathology laboratory between August 1,2013 and August 1, 2017.

Results: Sixty-eight patients aged between 1 and 18 years who were examined in the Department of Pathology of the Erzurum Regional Education and Research Hospital during the last 4 years were investigated. Of these, 28 (41.2%) were female and 40 (58.8%) were male. The mean age of all patients was 9±4.02 years. Giemsa staining was applied to the tissue specimens prepared from specimens, and examined under microscope to look for Hp. Hp was positive in tonsillar tissue specimens of 31 patients. *H.pylori* was detected in a single (n=13; 19.1%) or both tonsils (n=18; 26.5%). *H. pylori* was isolated from 12 (42.9%) tonsillectomy materials (unilateral, n=4; 14.3% and bilateral, n=8; 28.6%) of 28 female patients. *H. pylori* was seen in tonsillectomy materials of 19 (47.5%) of 40 male patients (unilateral, n=9; 22.5%, and bilateral, n=10; 25%)

Conclusion: As a result, *H. pylori* was detected in 45.6% of all cases with a slight male predominance. Chi-square test was performed using SPSS 20.0. The presence of Hp was not found to be directly related to age and gender when the tonsillectomy materials of the patients with chronic tonsillitis in 1-18 age group were analyzed.

Keywords: *H. pylori*, tonsil, chronic tonsillitis

Alındığı tarih: 06.12.2017

Kabul tarihi: 11.02.2018

Yazışma adresi: Doç. Dr. Ali Kurt, Erzurum Bölge Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji, 25000 - Erzurum - Türkiye
e-mail: alikurt1@gmail.com

GİRİŞ

Helicobacter pylori (Hp); çocukluktan başlayarak insanların yaklaşık yarısında görülen, gram (-), 0.5-0.9x3 µm ölçülerinde, spirale benzer, hareketli bir mikroorganizmadır ⁽¹⁾. Midede antrumu yeğler ve mukus içerisinde koloniler yapar. Üreaz enzimi ile üreyi amonyağa çevirir çevresinde bazik bir ortam oluşturarak mide asidinin zararlı etkilerinden korunur ⁽²⁾. Yapılan araştırmalarla midede yerleşen Hp'nin kronik aktif gastrit, peptik ülser, mide adenokarsinomu ve mukoza ile ilişkili lenfoid dokunun (MALT) lenfoması ile ilişkisi ortaya konmuştur ⁽³⁾. Geri kalmış bölgelerde ve düşük sosyoekonomik düzeyde yaşayanlarda daha sıktır ⁽⁴⁾. Mikroorganizmanın transmisyonunda 2 yol olabileceği iddia edilmektedir; fekal-oral ve oral-oral yollar. Dışkı, tükürük ve dental plaklarda Hp bulunması bu görüşleri desteklemektedir ⁽⁵⁾. Gastro-oral yolda ise, gastroözofageal reflü ve kusma ile Hp'nin palatin ve farengial tonsil dokularında yerleşebileceği düşünülebilir ^(6,7). Tonsil ve midede Hp görülme sıklığı arasında yakın ilişki bulunmuştur ⁽⁸⁾.

Bu çalışmanın amacı, kronik tonsillit tanısı almış ve cerrahi olarak tonsillektomi yapılmış 1-18 yaş grubu hastalara ait dokularda histokimyasal yöntemle (Modifiye Giemsa) Hp varlığının araştırılmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

01/08/2013 - 01/08/2017 tarihleri arasında hastanemiz Patoloji Kliniğine gelen tonsillektomi materyallerinden kronik tonsillit tanısı almış 1-18 yaş arası 68 olguda histokimyasal yöntemle (Modifiye Giemsa) Hp varlığı incelendi. Olgulara ait yaş, cinsiyet gibi parametreler hastalara ait raporlardan kaydedildi. Rutin formaldehit fikse parafine gömülü bloklardan histokimyasal olarak Giemsa ile boyanmak üzere 5 mm'lik kesitler alındı ve aşağıda belirtilen standart prosedüre göre boyama işlemi gerçekleştirildi.

Kesit önce distile suya alındı, dilüe edilmiş Giemsa

ile boyandı. Distile su ile tekrar yıkandı ve %0,5'lik asetik aside daldırıldı, fazla boya giderildi. Sonra hızla dehidrate edildi. Hp ile kolonize Kronik gastrit tanılı bir hastaya ait Giemsa boyaması pozitif kontrol olarak alındı. 5 ayrı araştırmacı tarafından Giemsa boyalı kesitlerde mukozal yüzeylerde Hp'nin varlığı değerlendirildi. Elde edilen verilere istatistik uygulandı.

İstatiksel Değerlendirme

Bulguların değerlendirilmesi için SPSS 20.0 programı kullanıldı. Ortalama değerler "aritmetik ortalama±standart sapma" olarak gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar için ki-kare testi kullanıldı ve p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Etik Kurul Raporu

Çalışmamız için hastanemiz Etik Kurulundan 03-01-2018 tarihinde KAEK 2018/01-07 numaralı karar alınmıştır.

BULGULAR

Olgularımızın 28'i (%41,2) kadın, 40'ı (%58,8) erkekti. Hastaların yaş ve cinsiyet durumları Tablo 1'de özetlenmiştir. Ortalama yaş 9±4,02 idi. Altmış sekiz hastadan 31'inde (%45,6) Hp varlığı izlendi. Bunların 13'ünde (% 19,1) tek taraflı, 18'inde (%26,5) ise çift taraflı Hp mevcuttu. Kadın olan 28 hastanın 12'sinde (%42,9) HP izlenirken, 4'ünde (%14,3) tek taraflı, 8'inde (%28,6) çift taraflı HP mevcuttu. Erkek olan 40 hastanın 19'unda (%47,5) HP izlenirken, 9'unda (%22,5) tek taraflı, 10'unda (%25,0) çift taraflı Hp belirlendi. Hastalarımıza ait yaş, cinsiyet ve Hp pozitiflik durumları Tablo 2'de özetlenmiştir.

İstatistiksel olarak SPSS 20.0 kullanılarak uygulanan ki-kare testi ile 1-18 yaş grubu kronik tonsillit tanılı hastalara ait tonsillektomi materyallerinde Hp

varlığının yaş ve cins ile doğrudan bir ilişkisinin bulunmadığı sonucuna varıldı.

Tablo 1. Materyallerin ait olduğu kişilerin yaş ve cinsiyet durumları.

Yaş	Hasta Kadın	Hasta Kadın %	Hasta Erkek	Hasta Erkek %	Hasta Toplam	Toplam %
1-3	2	7	0	0	2	3
4-6	7	25	16	40	23	34
7-9	4	14	12	30	16	23
10-12	5	18	5	12	10	15
13-15	9	32	3	8	12	18
16-18	1	4	4	10	5	7
Toplam	28	100	40	100	68	100

Tablo 2. Yaş ve cinsiyete göre tonsillerinde Hp pozitif materyaller.

Yaş	Erkek Hp+	Kadın Hp+	Toplam Hp+	% Hp+	Toplam Hp-	% Hp-
1	0	1	1	50	1	50
4	9	1	10	42	14	58
7	4	2	6	38	10	62
10	0	3	3	30	7	70
13	3	4	7	64	4	36
16	3	1	4	80	1	20
Toplam	19	12	31	100	38	100

TARTIŞMA

Kronik tonsillit çocuk yaş grubunda üst solunum yolunun en sık hastalığıdır. Lokal ve uzak komplikasyonlara neden olabileceği için sıklıkla tonsillektomi endikasyonu vardır. Gerikalmiş ülkelerde Hp, genellikle çocukluk çağında yerleşmekte olup^(9,10), görülme sıklığı yaş ile artmaktadır⁽⁹⁾. Son yıllarda tonsillerde Hp'nin varlığına dair birçok çalışma yapılmış, farklı yöntemler kullanılmış ve değişik sonuçlar elde edilmiştir.

Minocha ve ark.⁽¹¹⁾ 1997 yılında tonsillektomi operasyonu olanlarda Hp enfeksiyonu prevalansı, olmayanlara göre daha az görüldüğünü bulmuşlardır. Bu nedenle Palatin tonsillerin Hp için bir rezervuar görevi gördüğünü iddia etmişlerdir.

Hp tanısı için değişik bazı yöntemler kullanılabilir. Birçok patoloğ aynı olguda iki ayrı boya yöntemini uygulamaktadır. Rutin H-E boyama ve modifiye Giemsa diğer boyalardan daha avantajlı durumdadır⁽¹⁰⁻¹⁴⁾.

Bir başka çalışmada, Tri Wibava ve ark.⁽¹⁵⁾ konvansiyonel kültür, histokimyasal yöntem (Modifiye Giemsa) ve immünohistokimyasal yöntemle tonsil dokularında HP varlığını araştırmışlardır. On dokuz hastadan 3'ünde kültürde HP belirlenmiş, histokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemle %100 aynı sonuçlar elde edilmiştir. Kültür yöntemi canlı bakteriyi göstermesi açısından önemlidir, ancak mesela antibiyotik kullanımı, lokal enfeksiyon, anestezi uygulaması gibi çeşitli faktörler sensitivitesini azaltmaktadır. Dolayısıyla doğrulanması önemlidir.

Yine bir çalışmada, hızlı üreaz testi ile 19 hastada Hp araştırılmış ve %58 pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu oranın yüksekliğinde ağız içindeki üreaz pozitif bazı bakteriler, ptoteuslar ve Klebsiella pneumoniae etkin olabilir⁽¹⁶⁾.

Tonsillektomi örneklerinde histolojik yöntemle ve immünohistokimyasal analiz metodu ile Hp araştırılan bir çalışmada, hiç pozitif sonuç belirlenmemiştir. İmmünohistokimyasal yöntemlerde duyarlılık ve özgüllük yüksek olmaktadır. Bu nedenle araştırmacılar tonsillerin Hp için rezervuar kabul edilmeyebileceğini bildirmişlerdir⁽¹⁷⁾. Bir diğer araştırmada ise, arada önemli fark bulunamamıştır⁽¹⁸⁾.

Adenoidleri çıkartılan 25 hastada hızlı üreaz testi, histolojik inceleme (Modifiye Giemsa ve Warthin-Starry) ve PCR ile Hp araştırılan bir çalışmada hızlı üreaz testi ile 25 hastanın 21'inde pozitif sonuç elde edilmiş, 8 hastada Giemsa ile, 4 hastada Warthin-Starry ile pozitiflik izlenmiştir. PCR ile pozitif sonuç elde edilememiştir. Mide dışındaki, ağız içi gibi, asidik olmayan ve mikroorganizmaların bol bulunduğu bir bölgede PCR'de duyarlılık ve özgüllüğün yüksek olamayacağı sonucuna varılmıştır⁽¹⁸⁾.

PCR yöntemiyle faringeal ve palatin tonsil örnek-

lerinde Hp araştıran bir başka çalışmanın sonuçlarına göre, 23 hastadan 7'sinde (%30) Hp DNA'sı pozitif bulunmuştur. Yedi hastadan 5'inde *H. pylori* Cag A geni de pozitif bulunmuş ve oral oral bulaşın *H. pylori* yayılımında rolü olabileceği belirtilmiştir ⁽¹⁹⁾.

Histokimyasal analiz (Modifiye Giemsa yöntemi) ile Hp arayan Özgün ve ark. ⁽²⁰⁾ 100 tonsillektomi spesmeninden 48'inde (%48) pozitif sonuç bulmuşlardır. Sonuç olarak, kronik tonsillit için Hp'nin etiyolojik bir ajan olabileceğini ancak oral mukozanın kompleksliği dolayısıyla tezlerinin diğer testler ile doğrulanması gerektiğini savunmuşlardır.

Çalışmamızda, Hp için birçok araştırmada referans test olarak kabul edilen histokimyasal analiz (Modifiye Giemsa) metodu kullanıldı. Giemsa histokimyasal inceleme yerine immunhistokimyasal yöntemler yeğlenebilirdi. Laboratuvarımızda mide Hp tanısı için Giemsa kullandığımızdan teknisyenlerimiz bu boyaya alışkın ve immunohistokimyaya göre çok daha ucuz mal oluyor. Benzer sonuç elde edilebileceğinden daha ucuz, uygulaması kolay ve alışkın olduğumuzdan Giemsa boyası kullanmayı uygun bulduk.

Altmış sekiz tonsillektomi hastasına ait spesmenlerin 31'inde (%45,6) Hp saptandı. Bu sıklık literatürdeki bazı çalışmalarla benzer orandaydı. Dokulardaki Hp sayısı oldukça az olduğundan yoğunluk hesabı yapılamadı. Hp sıklığı açısından yaş ve cinsiyetle Hp sıklığı arasında anlamlı bir ilişki veya farklılık görülemedi. Bu bulgular sonucunda, tonsillerin *H. pylori* için özellikle pediatrik yaş grubunda rezervuar doku olabileceğini sonucuna varılabilir.

KAYNAKLAR

1. Mitchell HM. The epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 1999;241:11-30. https://doi.org/10.1007/978-3-642-60013-5_2
2. Guarner J. The spectrum of gastric disease associated with *Helicobacter pylori* and other infectious gastritides. *Curr Gastroenterol Rep*. 2004;6(6):441-6. <https://doi.org/10.1007/s11894-004-0065-7>
3. Cancer IAfRo. Infection with *Helicobacter pylori*. In:

4. Cancer IAfRo, ed. Schis-tosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. Lyon: World Health Organisation, IARC; 1994:177-202.
5. Eusebi LH, Zagari RM, Bazzoli F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2014;19(Supp 1):1-5. <https://doi.org/10.1111/hel.12165>
6. Brown LM. *Helicobacter pylori*: epidemiology and routes of transmission. *Epidemiol Rev*. 2000;22(2):283-97. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.epirev.a018040>
7. Dowsett SA, Kowolik MJ. Oral *Helicobacter pylori*: can we stomach it? *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(3):226-33. <https://doi.org/10.1177/154411130301400307>
8. Lukes P, Astl J, Pavlik E, Potuzníková B, Sterzl I, Betka J. *Helicobacter pylori* in tonsillar and adenoid tissue and its possible role in oropharyngeal carcinogenesis. *Folia Biol (Praha)*. 2008;54(2):33-9.
9. Fazaeli A. State of the globe: Diagnostic tests to detect *Helicobacter pylori* tonsillitis. *J Glob Infect Dis*. 2012;4(2):99-101. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.96765>
10. Erbey F, Acar MN, Okur M, Güven A. Van Gölü havzasında 1-18 yaş grubu çocuklarda *Helicobacter pylori* sıklığı. *Çocuk Enf Derg*. 2010;4:93-5. <https://doi.org/10.5152/ced.2010.12>
11. Erdoğan Durmuş Ş, Balta H, Akalp Özmen S, Kurt A, Çalık İ, Bilici AE, Erdoğan F. Erzurum ilinde 1-18 yaş çocuklarda histopatolojik olarak *Helicobacter pylori* sıklığı. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hast. Dergisi*. 2016;6(1):73-7.
12. Minocha A, Raczkowski CA, Richards RJ. Is a history of tonsillectomy associated with a decreased risk of *Helicobacter pylori* infection? *J Clin Gastroenterol*. 1997;25(4):580-2. <https://doi.org/10.1097/00004836-199712000-00005>
13. Lee JY, Kim N. Diagnosis of *Helicobacter pylori* by invasive test: histology. *Ann Transl Med*. 2015;3(1):10. <https://doi.org/10.3978/j.issn.2305-5839.2014.11.03>
14. Rotimi AC, Moeyyedi P, Dixon MF. Histological identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of staining methods. *J Clin Pathol*. 2000;53:756-9. <https://doi.org/10.1136/jcp.53.10.756>
15. Cırac MY, Ozdek A, Yılmaz D, Bayiz U, Samim E, Turet S. Detection of *Helicobacter pylori* and its CagA gene in tonsil and adenoid tissues by PCR. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;129:1225-9. <https://doi.org/10.1001/archotol.129.11.1225>
16. Tri W, Agus S, Irianiwati W. Isolation of viable *Helicobacter pylori* in the tonsillar tissues of chronic tonsillitis patients. *J Infect Dev Ctries*. 2011;5(7):561-4.
17. Unver S, Kubilay U, Sezen OS, Coskuner T. Investigation of *Helicobacter pylori* colonization in adenotonsillectomy specimens by means of the CLO test. *Laryngoscope*. 2001;111:2183-6. <https://doi.org/10.1097/00005537-200112000-00021>
18. Uygur-Bayramicli O, Yavuzer D, Dabak R, Aydin S, Kurt N. *Helicobacter pylori* colonization on tonsil tissue. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:2470-1. [https://doi.org/10.1016/S0002-9270\(02\)04367-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9270(02)04367-8)
19. Bitar MA, Soweid A, Mahfouz R, Zaatari G, Fuleihan N. Is *Helicobacter pylori* really present in the adenoids of children? *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2005;262:987-92.

- <https://doi.org/10.1007/s00405-005-0926-1>
19. Bayındır T, Toplu Y, Otlu B, Yakupoğulları Y, Yıldırım Ö, Kalcıoğlu MT. Prevalance of the Helicobacter pylory in the tonsils and adenoids. Brezilian Journal of Otorhinolaryngology. 2015;81(3):307-11.
<https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2014.08.018>
20. Ozgun E, Tuncel D, Tan A, Albayrak A, Emil Sayhan S, Bozlak N. is Helicobacter Pylori a Possible Etiopathogenic Factor in Chronic Tonsillitis? J Clin Anal Med. 2015;6(3):312-5.
<https://doi.org/10.4328/JCAM.2020>