

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/44585377>

[Investigation of the presence of Helicobacter pylori by different methods in patients with dyspeptic complaints]

Article in *Mikrobiyoloji Bulteni* · January 2010

Source: PubMed

CITATIONS

19

READS

117

3 authors, including:



Mehmet Özdemir

Necmettin Erbakan University, Konya, Turkey

126 PUBLICATIONS 728 CITATIONS

SEE PROFILE



Bülent Baysal

29 PUBLICATIONS 303 CITATIONS

SEE PROFILE

DİSPEPTİK YAKINMALARI OLAN HASTALARDA *HELICOBACTER PYLORI* VARLIĞININ FARKLI YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF THE PRESENCE OF *HELICOBACTER PYLORI* BY DIFFERENT METHODS IN PATIENTS WITH DYSPEPTIC COMPLAINTS

Fatma KALEM¹, Mehmet ÖZDEMİR², Bülent BAYSAL²

¹ Konya Numune Hastanesi, Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Konya.

² Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Konya.
(mehmetozdem@yahoo.com)

ÖZET

Dünyada yaygın olarak görülen *Helicobacter pylori* enfeksiyonları, gastrit, gastrik ve peptik ülser, gastrik adenokarsinom ve MALT (mukoza ile ilişkili lenfoid doku) lenfomaları için risk faktörüdür. *H.pylori* enfeksiyonunun tanısında invazif olan (endoskopi gerektiren) kültür, histoloji ve üreaz testleriyle birlikte invazif olmayan (endoskopi gerektirmeyen) üre nefes testi, gaitada antijen testi (*H.pylori* stool antigen; HpSA) testi ve serolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada, dispeptik yakınmaları olan hastalarda *H.pylori* varlığının hızlı üreaz testi, HpSA testi, histopatolojik inceleme ve kültür yöntemleri ile araştırılması ve invazif olmayan HpSA testinin tanısallık performansının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya, Ocak 2005-Aralık 2006 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Kliniğine dispeptik yakınmalarla başvuran ve gastroduodenoskopi yapılan 103 hasta dahil edilmiştir. Hastaların tümünden alınan biyopsi örneklerinin (n= 103) kültürü yapılmış; örnek yetersizliği nedeniyle 98 hastanın biyopsi örneğinde üreaz testi, 76 hastanın biyopsi örneğinde histopatolojik inceleme ve 86 hastanın gaita örneğinde HpSA testi gerçekleştirilebilmiştir. Biyopsi örneklerinin %38.8 (40/103)'ünden *H.pylori* izolasyonu yapılmış; %38.2 (29/76)'sinde histopatoloji ile, %86.7 (85/98)'sinde üreaz testi ile ve gaita örneklerinin %44.2 (38/86)'sinde HpSA testi ile *H.pylori* pozitifliği tespit edilmiştir. Kültür yöntemi referans olarak alındığında, kullanılan testlerin duyarlılık ve özgüllük değerleri sırasıyla; hızlı üreaz testi için %97.5 ve %20.7, histopatoloji için %72.5 ve %100, HpSA için ise %75 ve %82.6 olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, gaitada antijen testinin endoskopi yapılmayan/yapılamayan hasta gruplarında *H.pylori* tanısı için tarama amaçlı kullanılabileceği, ancak invazif yöntemlerin uygulanabilmesi halinde, tanının mutlaka duyarlılık ve özgüllüğü daha yüksek olan bir yöntemle (kültür, histopatoloji) doğrulanması gerektiği düşünülmüştür.

Anahtar sözcükler: *Helicobacter pylori*, tanı, kültür, üreaz, biyopsi.

ABSTRACT

Helicobacter pylori infections which are common worldwide may be a risk factor for gastritis, gastric and duodenal ulcers, gastric adenocarcinoma and mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphomas. For the detection of *H.pylori*, invasive methods such as culture, histopathology and rapid urease tests which require endoscopy and gastric biopsy specimen and non-invasive methods (not requiring endoscopy) such as urea breath test, stool antigen test (*H.pylori* stool antigen; HpSA) and serology are used. The aim of this study was to investigate the presence of *H.pylori* in patients with dyspeptic complaints, by rapid urease test, HpSA test, culture and histopathology and to evaluate the diagnostic performance of HpSA test. A total of 103 dyspeptic patients who were admitted to Selcuk University Meram Medical Faculty Gastroenterology Clinic and undergone gastroduodenal endoscopy between January 2005 and December 2006, were included to the study. All the specimens were cultivated, however, urease activity was tested in 98 of the patients, histopathological examination in 76 and HpSA test in 86 of the patients. *H.pylori* was isolated in 38.8% (40/103) of the specimens by culture. *H.pylori* was positive in 38.2% (29/76) of the specimens by histopathology, in 86.7% (85/98) by urease test, and in 44.2% (38/86) by HpSA test. The sensitivity and specificity values of the tests when culture was taken as the gold standard, were; 97.5% and 20.7% for urease test, 75% and 82.6% for HpSA test and 72.5% and 100% for histopathology, respectively. In conclusion, HpSA method could be applied as a screening test for *H.pylori* diagnosis in case endoscopy could not be performed. However, if invasive methods were to be performed, the diagnosis should be confirmed by a more sensitive and specific test such as culture and histopathology.

Key words: *Helicobacter pylori*, diagnosis, culture, urease, biopsy.

GİRİŞ

Helicobacter pylori küçük, kıvrık ve oldukça hareketli gram-negatif bir basildir¹⁻³. Mide- nin sadece mukus tabakasında kolonize olur. Bakterinin 1984 yılında mide mukozasında tanımlanmasından bu yana duodenal ülserin başlıca sebebi olduğu, gastrik kanser gelişiminde de en önemli risk faktörü olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca MALT (mukoza ile ilişkili lenfoid doku) lenfoma ve mide adenokanseri ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir^{4,5}. Bakteri ile kolonize olan hastaların %70'ten fazlası asemptomatiktir. Bu sebeple enfeksiyonun nasıl kazanıldığı, enfekte hastaların neden çok az bir kısmında ülser ve kanser geliştiği ve bu alt grubun nasıl teşhis ve tedavi edileceğini saptamak önemlidir. Dünya nüfusunun %60-70'inin bu bakteri ile kolonize olduğu tahmin edilmektedir. Bu sebeple bu bakterinin yol açtığı enfeksiyonların önemli bir sağlık sorunu olduğu söylenebilir⁶.

H.pylori tanısında invazif olan ve olmayan yöntemler kullanılmaktadır⁷. Üre nefes testi, gaitada antijen testi (HpSA), polimeraz zincir reaksiyonu ve serolojik yöntemler kullanılan invazif olmayan metotlardandır. İnvazif yöntemler ise endoskopiye bağımlıdır ve alınan biyopsi örneğinde hızlı üreaz testi ve histopatolojiyle bakteri varlığı gösterilebilir. Ayrıca, biyopsi örneğinden kültür yapılarak bakteri izole edilebilir; ancak özel koşullara gereksinim duyduğundan *H.pylori*'yi kültürde üretmek oldukça zordur⁷. Bu çalışmada, gastrointestinal sistem şikayeti olan hastalarda *H.pylori* varlığı; gastrik biyopsi örneklerinde hızlı üreaz testi, histopatolojik inceleme ve kültür yöntemleriyle; eş zamanlı alınan gaita örneklerinde ise HpSA testi ile araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Kliniğine, dispeptik şikayetlerle Ocak 2005-Aralık 2006 tarihleri arasında başvurarak gastroduodenoskopi yapılan ve gastrit, duodenit ve ülser tanısı alan 103 hasta alındı. Çalışma, Fakültemizin etik kurul onayı ile gerçekleştirildi. Son 1 hafta içinde proton pompa inhibitörleri, antiasit, bizmut içeren bileşikler ve/veya antibiyotik alan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya alınan hastalarda epigastrik ağrı ve rahatsızlık hissi, meteorizm, pirozis, dolgunluk, şişkinlik hissi, çabuk doyma, bulantı-kusma, geğirme ve aşırı gaz çıkarma şikayetlerinden bir veya birkaçı mevcuttu. Hastalardan gastroduodenoskopi ile, üreaz testi, kültür ve histopatolojik inceleme için kullanılmak üzere 3'er adet biyopsi örneği alındı. Ancak biyopsi miktarının yetersiz olması nedeniyle 5 hastada hızlı üreaz testi, 27 hastada ise histopatolojik araştırma yapılamadı.

Kültür için kullanılacak biyopsi örnekleri en geç 1 saat içinde laboratuvara ulaştırıldı ve steril koşullarda pylori agara sürüntü şeklinde ekim yapıldı. Plaklar %5-10 CO₂ içeren etüvde inkübasyona bırakıldı ve 3. günden sonra her gün üreme olup olmadığı kontrol edildi. Yedinci gün sonunda halen üreme olmadıysa negatif olarak kabul edildi. Pylori agarda, su damlası şeklinde, 0.5-1 mm çapında, şeffaf ve düzgün kenarlı olarak üreyen koloniler değerlendirildi. Bu kolonilerden yapılan Gram boyama sonunda, gram-negatif kıvrık basillerin görülmesi *H.pylori* varlığını düşündürdü. Daha sonra izolatlara oksidaz ve katalaz testi uygulandı ve suşlar mikroskobik ve biyokimyasal özelliklerine göre tanımlandı.

Hastaların 86'sından alınabilen gaita örneklerinde hızlı antijen testi (HpSA; Meridian Bioscience Europe, Milano, İtalya) çalışıldı. Bu testte; 5 dakika içinde mavi kontrol bantı ile birlikte kırmızı renkte bant oluşumu pozitif olarak değerlendirildi.

Hızlı üreaz testi, biyopsi örneğinde CLO kiti (Kimberly-Clark, USA) kullanılarak gastroduodenoskopi sırasında uygulandı.

Olgularda *H.pylori* enfeksiyonu varlığı; (a) tek başına kültür pozitifliği ve/veya (b) histopatolojik incelemede pozitiflik ile birlikte gaita antijeni ya da hızlı üreaz testlerinden birinin pozitifliği ile değerlendirildi. Kültür, altın standart yöntem olarak alınarak histopatoloji, hızlı üreaz testi ve gaita antijen testinin duyarlılık ve özgüllük değerleri belirlendi.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 103 hastanın yaş ortalaması 50.1 ± 3.6 yıl (yaş aralığı: 18-83 yıl) olup, 44'ü kadın, 59'u erkektir. Gastroduodenoskopi ile hastaların 2 (%0.2)'sine peptik ulkus, 93 (%90.2)'üne ise gastrit tanısı konulmuş; 8 (%0.8) hasta endoskopi ile normal olarak değerlendirilmiştir.

Tüm hastalardan alınan biyopsi örneklerinin kültürleri değerlendirildiğinde, hastaların 40 (%38.8)'ında *H.pylori* üremesi tespit edilmiş ve uygulanan farklı yöntemlerle alınan sonuçlar Tablo 1'de verilmiştir. Kültür pozitifliği saptanan hastaların 39'unda üreaz testi; 29'unda histopatolojik inceleme ve 30'unda HpSA testi pozitif bulunmuştur. Buna göre kullanılan yöntemlerin duyarlılık ve özgüllükleri sırasıyla, üreaz testi için %97.5 ve %20.7; histopatoloji için %72.5 ve %100, HpSA testi için ise %75 ve %82.6 olarak hesaplanmıştır.

Tablo 1. Farklı Yöntemlerle Elde Edilen *Helicobacter pylori* Pozitiflik Oranları

Yöntem (çalışılan hasta sayısı)	<i>H.pylori</i> pozitiflik sayısı (%)
Üreaz testi (98)	85 (86.7)
Histopatolojik inceleme (76)	29 (38.2)
Gaitada antijen testi (86)	38 (44.2)
Kültür (103)	40 (38.8)

TARTIŞMA

Dünyada yaygın olarak bulunan *H.pylori* enfeksiyonları, özellikle gelişmekte olan ülkelerde yüksek seroprevalans ve kolonizasyon oranlarına sahiptir⁸. Ülkemizde yapılan çalışmalarda, %44-70 arasında değişen oranlarda seropozitiflik bildirilmektedir⁹⁻¹¹. Tedavide kullanılan ilaçlara karşı son yıllarda giderek artan direnç oranları da, bakterinin eradikasyonunu zorlaştırmaktadır. Bu nedenlerden dolayı, *H.pylori* enfeksiyonlarının hızlı ve doğru tanısı, tedavi başarısının sağlanmasında ve ciddi komplikasyonların önlenmesinde önem taşımaktadır. Sunulan çalışmada, dispeptik şikayetleri nedeniyle gastroduodenoskopi yapılan 103 erişkin hastadan alınan biyopsi örneklerinde *H.pylori* varlığı kültür, histopatoloji ve hızlı üreaz testleri ile araştırılmıştır.

H.pylori enfeksiyonlarının tanısında kültür yöntemi, maliyeti yüksek, zaman alıcı ve zahmetli olmasına rağmen, en yüksek özgüllüğe sahip olması ve izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının araştırılmasına olanak vermesi nedeniyle geçerliliğini korumaktadır^{12,13}. Ancak *H.pylori*'nin zor üreyen bir bakteri olması, özel koşullar gerektirmesi ve ayrıca enfeksiyonun mukozada yama tarzında yerleşim göstermesine bağlı olarak doğru bölgeden biyopsi alınamaması gibi durumlar, kültürün duyarlılığını düşürmektedir¹³. Biyopsi örneklerinden *H.pylori* izolasyon oranı Storskrub ve arkadaşlarının¹⁴ çalışmasında %33 (336/1000), Dağlıoğlu'nun¹⁵ çalışmasında ise %63 (41/65) olarak verilmiştir. Bizim çalışmamızda bu oran yaklaşık %39 (40/103) olarak saptanmıştır.

Ni ve arkadaşlarının¹⁶ 7 farklı yöntemi karşılaştırdıkları çalışmalarında, en az 3 testin pozitifliği standart olarak kabul edilmiş ve üreaz testi, histoloji ve kültür yöntemlerinin tanısal duyarlılığı sırasıyla; %96.2, %98.1 ve %98.1 olarak bildirilmiştir. Kaklıkkaya ve arkadaşlarının¹⁷ çalışmasında ise, üreaz testinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla; %77.2 ve %92 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda kültür yöntemi referans olarak alındığında, üreaz testinin duyarlılık ve özgüllüğü sırasıyla %97.5 ve %20.7 oranında saptanmıştır. Hızlı üreaz testi için saptadığımız duyarlılık değeri, diğer çalışmalarla uyumlu olmasına rağmen özgüllüğün çok düşük bulunması; üreaz enzimi oluşturan diğer bakterilerin (örn. *Proteus* türleri) kontaminasyonu ya da endoskopi sırasında CLO testinin hatalı uygulanması sonucu ortaya çıkan yalancı pozitifliklere bağlanmıştır. Histopatolojik inceleme için saptadığımız duyarlılık ve özgüllük oranları (sırasıyla; %72.5 ve %100) ise diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir^{12,16}.

H.pylori enfeksiyonunun tanısında son yıllarda kabul gören ve yaygın olarak kullanılmaya başlanan gaitada antijen testinin (HpSA) ise yüksek duyarlılık ve özgüllüğe (%96-100) sahip olduğu bildirilmektedir^{16,18-20}. Aktif enfeksiyon varlığını gösteren bu test, hasta başında uygulanabilen, kullanımı kolay ve ucuz bir yöntem olmasının yanı sıra, invazif işlem gerektirmediği için de özellikle çocuklardaki enfeksiyonların tanısında tercih edilmektedir. Ülkemizde yapılan çalışmalarda HpSA testinin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri, Çetin ve arkadaşları²¹ tarafından sırasıyla; %92.2, %91.2, %95.2 ve %86.1; Gülcan ve arkadaşları²² tarafından %98, %100, %100 ve %96.5, Özdemir ve Baykan²³ tarafından ise %87.9, %94.6, %96.7 ve %81.4 olarak bildirilmiştir. Buna karşın, erişkin hastalarda hızlı antijen testini değerlendiren Krausse ve arkadaşları²⁴, testin duyarlılık ve performansının, sonuçları okuma zamanına, hastanın cinsiyetine ve yaşına bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ifade etmişlerdir. Çalışmamızda, HpSA testinin duyarlılık ve özgüllüğü %75 ve %82.6 olarak belirlenmiş ve sonuçlarımız gerek ülkemizde yapılan gerekse yurt dışı çalışmalarda elde edilen sonuçlara benzer bulunmuştur.

H.pylori enfeksiyonlarının tanısında kullanılan farklı özgüllük ve duyarlılığa sahip birçok yöntem arasından yapılacak olan seçim, amaca bağlı olarak değişkenlik göstermektedir²⁵. Örneğin; amaç, "alarm" semptomları olmayan 45 yaşın altındaki hastalarda enfeksiyonun tespiti ve eradikasyonu ise (test and treat strategy), üre nefes testi ve gaitada antijen testi yeterli olurken; mukozanın durumunun değerlendirilmesi için histopatoloji; tedavinin başarısız olduğu durumlarda suşların tiplendirilmesi ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılabilmesi için kültür yöntemleri ön plana çıkmaktadır²⁵. Sonuç olarak çalışmamızın bulguları, endoskopi yapılmayan/yapılamayan hasta gruplarında *H.pylori* tanısı için gaitada antijen testinin tarama amaçlı kullanılabileceğini, ancak invazif yöntemlerin uygulanabilmesi halinde, tanının mutlaka duyarlılık ve özgüllüğü daha yüksek olan bir yöntemle (kültür, histopatoloji) doğrulanması gerektiğini düşündürmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmaya katkısından dolayı Hacettepe Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Yakut Akyön Yılmaz'a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. Logan R, Walker M. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. BMJ 2001; 323: 920-2.
2. Bilgehan H. Klinik Mikrobiyoloji: Özel Bakterioloji ve Bakteri İnfeksiyonları, s: 137-45. 2000, 10. baskı. Fakülteler Kitabevi, İzmir.
3. Erdem B. *Campylobacter* ve *Helicobacter*, s: 531-47. Ustaçelebi Ş, Mutlu G, İmır T, Cengiz AT, Tümbay E, Mete Ö (ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1999, Güneş Kitabevi, Ankara.
4. Çelebi A, Alicanoğlu R, Keskin S ve ark. *Helicobacter pylori* pozitif kronik aktif gastrit ve duodenal ülserli hastalarda MALT prevalansı. Türkiye Klinikleri Derg 2005; 25: 627-35.
5. Ulutin HC, Öngörü Ö, Kömürcü Ş, Özet A, Pak Y. Gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma: review of the literature and a case report. Türkiye Klinikleri Derg 2002; 22: 517-20.
6. Kadanalı A, Özkurt Z. *Helicobacter pylori* enfeksiyonu: epidemiyoloji, patogenezi ve ilişkili hastalıkları. Klimik Dergisi 2004; 17: 146-50.

7. Yılmaz Y. *Helicobacter pylori*. Mikrobiyolojik tanı yöntemleri. Hacettepe Tıp Derg 2004; 35: 182-6.
8. Alborzi A, Soltani J, Pourabbas B, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in children (south of Iran). Diag Microbiol Infect 2006; 54: 259-61.
9. Us D, Haşçelik G. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in an asymptomatic Turkish population. J Infect 1998; 37: 148-50.
10. Yılmaz E, Doğan Y, Gürgöze M, Ünal S. Seroprevalance of *Helicobacter pylori* infection among children and their parents in eastern Turkey. J Pediatr Child Health 2002; 38: 183-5.
11. Alim A, Ataş A, Güneş T. Sivas il merkezinde, semptomatik ve asemptomatik yetişkin bireylerde *H.pylori* seroprevalansı. C.Ü. Tıp Fakültesi Derg 2004; 26: 75-80.
12. Leodolter A, Wolle K, Malfertheiner P. Current standards in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Dig Dis 2001; 19: 116-22.
13. Zullo A, Hassan C, Lorenzetti R, Winn S, Morini S. A clinical practice viewpoint: to culture or not to culture *Helicobacter pylori*? Digestive and Liver Dis 2003; 35: 357-61.
14. Storskrubb T, Aro P, Ronkainen J, et al. Antimicrobial susceptibility of *Helicobacter pylori* strains in a random adult Swedish population. Helicobacter 2006; 11: 224-30.
15. Dağlıoğlu K. Mide kanserlerinde tespit edilen *H.pylori* suşlarında çağ A ve vac A insidansı ile antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, 2002.
16. Ni Y, Lin J, Huang S, et al. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by gaita antigen test and 6 other currently available tests in children. J Pediatr 2000; 6: 823-7.
17. Kaklıkkaya N, Çubukçu K, Yazıcı Y ve ark. Gastro-intestinal yakınması olan hastalarda Gram boyama, üreaz ve kültür testleri ile *Helicobacter pylori* varlığının belirlenmesi. İnfeksiyon Derg 2003; 17: 329-32.
18. Falsafi T, Valizadeh N, Sepehr S, Najafi M. Application of a gaita antigen test to evaluate the incidence of *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents from Tehran, Iran. Clin Diagn Lab Immunol 2005; 12: 1094-7.
19. Perri F, Quitadamo M, Ricciardo R, et al. Comparison of monoclonal antigen gaita test (HpStar) with the 13C - Urea - breath test (UBT) in monitoring *Helicobacter* eradication therapy. World J Gastroenterol 2005; 13: 5878-81.
20. Frenck RW Jr, Fathy HM, Sherif M, et al. Sensitivity and specificity of various tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* in Egyptian children. Pediatrics 2006; 118: e1195-202.
21. Çetin B, Gündüz A, Erdem L, Seber E, Sökmen M. *Helicobacter pylori* enfeksiyonları ve dışkı antijen testinin tanıdaki değeri. Klimik Dergisi 2004; 17: 177-80.
22. Gulcan E, Varol A, Kutlu T, et al. *Helicobacter pylori* gaita antigen test. Indian J Pediatr 2005; 72: 675-8.
23. Özdemir M, Baykan M. Dispeptik hastalarda *H.pylori* enfeksiyonu tanısında *H.pylori* gaita antijeninin tanı değerinin incelenmesi. Genel Tıp Derg 2005; 15: 65-70.
24. Krause R, Müller G, Doniec M. Evaluation of a rapid new stool antigen test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult patients. J Clin Microbiol 2008; 46: 2062-5.
25. Pellicano R, Fagoonee S, Palestro G, Rizzetto M, Figura N, Ponzetto A. The diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: guidelines from the Maastricht 2-2000 Consensus Report. Minerva Gastroenterol Dietol 2004; 50: 125-33.