

بررسی فراوانی ژن های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از پلاک های دندانی افراد مبتلا به بیماری پریودنتال

الهه قنبری^۱، دکتر کیومرث امینی^۲، دکتر پرویز امینی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سیرجان، سیرجان، ایران.

۲- دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه، ایران.

۳- دانشیار، گروه پروتز ثابت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران.

وصول مقاله: ۹۷/۴/۱۹ اصلاح نهایی: ۹۷/۸/۲۰ پذیرش مقاله: ۹۷/۹/۳

The prevalence of virulence genes in *Helicobacter pylori* isolated from dental plaques in patient with periodontal

Elahe Ghanbari¹, Kumarss Amini², Praviz Amini³

¹Dept of Microbiology, School of Basic Sciences, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran.

²Associate Professor, Microbiology Dept, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.

³Associate Professor, Prosthodontics School of Dentistry Dept, Kerman University of Medical Sciences Kerman, Kerman Iran.

Received: 10 June 2018; Accepted: 24 November 2018

Abstract

Background & Aim: *Helicobacter pylori* is a major cause of gastric ulcer and peptic ulcer and is considered a risk factor for gastric cancer. Gingival grooves in the teeth of people with chronic periodontitis may act as a reservoir for *H. pylori*. Therefore, the aim of this study was to investigate the virulence genes of *H. pylori* isolated from dental plaques.

Material & Methods: The study was cross-sectional and from 120 patients with periodontitis referring to Tehran dental clinics, 111 dental plaque samples were isolated. Sterile physiology serum was used to transfer the sample. Growth in Brucella agar + 1% starch + 10-7% at 37 ° C and 95% humidity and CO2 concentration of 0.5% in CO2 incubator. In order to identify the molecules, DNA extraction was performed and then the sequences of JW22 and JW23 regions were used for accurate identification.

Results: Of the 111 dental plaque samples taken from 120 participants in this study, 22 strains (19%) were positive for *H. pylori* which 10 strains carrying different *H. pylori* virulence genes. The molecular analysis of the studied genes showed that the frequency of *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* and *hrgA* genes showed that the prevalence of these genes was 19% of *H. pylori* strains of 3 (57.5%), 1 (0.19%), %, 2 (0.34%), 1 (19.1%) and 1 (0.19%), respectively.

Conclusions: It seems that in spite of the presence of *Helicobacter pylori* virulence genes in the dental plaque, to control the related diseases in addition to antibiotic treatments periodontal treatments and dental plaque control are also required.

Key words: *Helicobacter pylori*, dental plaque, periodontal disease, peptic ulcer, gastritis

*Corresponding Author: dr_kumarss_amini@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2019;15(4) :233-240.

خلاصه:

سابقه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری به عنوان عاملی برای زخم گاستریت و زخم پپتیک مطرح است و یک عامل خطر ساز برای سرطان معده محسوب می شود. شیارهای لثه در دندان افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن ممکن است به عنوان یک مخزن برای هلیکوباکتر پیلوری عمل کنند. لذا، هدف از مطالعه حاضر، بررسی ژن های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از پلاک های دندانی و ارتباط آن با زخم های گوارشی می باشد.

مواد و روش ها: مطالعه از نوع توصیفی بوده و از ۱۲۰ بیمار مبتلا به پریودنتیت مراجعه کننده به مراکز دندان پزشکی تهران ۱۱۱ نمونه پلاک دندانی جداسازی شد. کشت در محیط بروسلا آگار ۱٪ نشاسته ۱۰-۷٪ و در حرارت ۳۷ درجه و رطوبت ۹۵ درصد و فشار ۰/۵ CO₂ در انکوباتور CO₂ قرار داده شد. به منظور شناسایی مولکولی استخراج DNA انجام و سپس برای شناسایی دقیق از توالی نواحی JW22 و JW23 استفاده شد.

یافته ها: از مجموع ۱۱۱ نمونه پلاک دندانی اخذ شده از ۱۲۰ فرد شرکت کننده در این مطالعه، تعداد ۲۲ سویه (۱۹٪) از نظر وجود هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند که ۱۰ سویه حامل ژن های ویروالانس مختلف هلیکوباکتر پیلوری بودند. آنالیز مولکولی ژن های مورد مطالعه نشان داد که فراوانی ژن های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* به ترتیب برابر ۳ (۵۷٪)، ۱ (۱۹٪)، ۲ (۳۴٪)، ۱ (۱۹٪) و ۱ (۱۹٪) بود.

نتیجه گیری: به نظر می رسد با وجود ژن های ویروالانس هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی، جهت کنترل بیماری های مرتبط با این باکتری در دستگاه گوارش علاوه بر درمان های آنتی بیوتیکی، درمان های پریودنتال و کنترل پلاک دندانی نیز لازم است. کلمات کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، پلاک دندانی، بیماری پریودنتال، فراوانی، زخم معده

مقدمه:

نقش بسیار مهمی در ابتلا کودکان به هلیکوباکتر پیلوری ایفا نماید.^(۵) در بررسی های زیادی مسیر انتقال این باکتری از طریق ترشحات معده ای و استفراغ اگر این مواد وارد دهان کودک شوند، گزارش شده است.^(۶) روش های تشخیص به دو دسته تهاجمی و غیر تهاجمی تقسیم می شوند. آزمایش سریع اوره آز و همچنین روش بافت شناسی از روش های تهاجمی می باشند. روش غیر تهاجمی معمولاً اولین اقدام تشخیصی می باشد تست سرولوژی و تست تنفسی اوره و روش تشخیص بهبودی از عفونت براساس یافتن آنتی ژن در مدفوع می باشد.^(۷) مطالعه توالی ژن های *vacA*، *flaA*، *flaB*، *cysS*، *ureC*، *glmM*، *tnpA*، *B* و *IS605* از ژنوم باکتری نشان دهنده تنوع توالی نوکلئوتیدی بسیار شدیدی در ژن های ارتولوکوس سویه های غیر مرتبط هلیکوباکتر پیلوری می باشد که این نوع تنوع در دو سویه باکتری با ژن های ارتولوکوس یکسان بسیار نادر است. این یافته نشان دهنده نو ترکیب بسیار

هلیکوباکتر پیلوری ارگانسمی متعلق به خانواده باسیل های گرم منفی، خمیده، اکسیداز مثبت با قدرت تخمیری، میکروآئروفیلیک، کند رشد است که در معده و دوازدهه یافت شده و با تعدادی از بیماری های معده دوازدهه ارتباط دارد.^(۱،۲) پروتئین القاء کننده واکوئل *Vacuolating cytotoxin* (VacA)، متشکل از تعدادی پلی پپتید با وزن مولکولی ۹۵ KDa می باشد که دو زیر واحد A و B را تشکیل می دهند مطالعات میکروسکوپی نشان می دهد که این پروتئین به صورت گُل بوده که از شش تا هفت گلبرگ تشکیل شده است و منفذ میانی آن دارای قطری در حدود ۵ تا ۶ نانو متر می باشد.^(۳،۴) راه های انتقال باکتری به صورت گوارشی-دهانی و دهانی-دهانی مشاهده شده و در مسیر انتقال گوارشی-دهانی، ۵۸٪ از بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری در مایع معده ای خود دارای هلیکوباکتر پیلوری می باشند و می توانند مسیر آلودگی هلیکوباکتر را نشان دهند و این مسیر

بالا در بین ال‌های ژنی و ثبات کلونال ژنی بسیار ضعیف در هلیکوباکترپیلوری می‌باشد. با توجه به اهمیت عفونت هلیکوباکترپیلوری در بیماری‌های گوارشی تنوع ژنتیکی در این باکتری نقش بسزایی را در شدت عفونت ایفا می‌کند به عنوان مثال حضور جزیره پاتوژنسیته *cagA* در سویه‌های ایجاد کننده بیماری‌های گوارشی در جمعیت‌های مختلف (ونه تمام جمعیت‌ها) اثبات شده است.^(۸) رونویسی و ترجمه در هلیکوباکترپیلوری بسیار مشابه سایر باکتری‌های گرم منفی می‌باشد تاکنون تنها یک تفاوت مهم در فیوژن پروتئین کد شده توسط ژنهای *rpoB* و *rpoC* شناسایی شده که به ترتیب کد کننده زیر واحد β و β' آنزیم RNA پلیمرز هستند و در هر دو سویه J۹۹ و ۲۶۶۹۵ وجود دارند. قطعات پپتیدوگلیکانی که توسط سیستم ترشحی تیپ ۴ کد شده توسط جزایر پاتوژنسیته *cagA* به درون سلول انتقال می‌یابند.^(۸،۹) سلولهای اپیتلیال مخاطی هدف اصلی جهت اتصال برخی باکتری‌های مهاجم نظیر هلیکوباکترپیلوری می‌باشند. سلولهای اپیتلیال باعث جدایی محیط خارجی و محیط داخلی می‌شوند. هلیکوباکترپیلوری با استفاده از سیستم ترشحی تیپ IV می‌تواند به سلولهای اپیتلیال اتصال یافته و پروتئین‌هایی نظیر CagA را به درون سلول میزبان ترشح کند. اتصال سیستم ترشحی به سلول میزبان از طریق رسپتور اینتگرین بتا ۱ انجام می‌گیرد. اتصال به سلول میزبان منجر به افزایش نفوذپذیری غشای سلولی و تغییراتی در پروتئین‌های اصلی اتصال محکم بین دو سلول شده و باعث جدایی دوسلول و تخریب بافتی می‌شود. برای اتصال به سلول میزبان هلیکوباکتر پیلوری از کادهرین‌های میزبانی نظیر E کادهرین، P120 کادهرین و همچنین B کتینین استفاده می‌کند.^(۱۰) احتمالات مختلفی در خصوص حضور هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندان وجود دارد که عبارتند از: احتمال انتقال مدفوعی-دهانی، احتمال آلودگی دندانپزشکان با این میکروب و احتمال انتقال این ارگانسیم از فردا ناقل به سالم بویژه بین افراد یک خانواده. در مطالعات اولیه نشان داده شده است که هلیکوباکتر می‌تواند به صورت انتخابی

به گونه‌های فوزوباکتریوم نوکلئاتوم و پورفیروموناس ژنژیوالیس در پلاک دندان متصل شد. این باکتری همچنین در بزاق، پلاک لثه و پشت زبان مشاهده شود. برخی محققین حضور هلیکوباکتر پیلوری در دهان را در نتیجه بروز رفلاکس معده می‌دانند. ازسوی دیگر حائریان و همکاران در سال ۱۳۹۳ نشان دادند که درمان پریدونتال تأثیری بر عود علائم دیس پپسی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری ندارد. لذا هدف از اجرای مطالعه حاضر تعیین فراوانی فاکتورهای ویروالانس هلیکوباکتر پیلوری (*cagA*, *vacA*, *cagE*, *cagT* و *hrgA*) جدا شده از پلاک دندانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

روش نمونه‌گیری و کشت: در این مطالعه توصیفی-مقطعی از ۱۲۰ بیمار مبتلا به پریدونتیت مراجعه کننده به مراکز دندان پزشکی تهران نمونه‌گیری انجام شد. این مطالعه با کد -AU-2033054 ثبت و مورد تأیید قرار گرفت. تمامی نمونه‌ها توسط پزشک متخصص دندانپزشکی تهیه شد. برای انتقال نمونه از سرم فیزیولوژی استریل استفاده شد (در تمام مراحل انجام آزمایش از کنترل مثبت و کنترل منفی استفاده شد) پاکت پریدونتال به همراه جداشدگی چسبندگی لثه (Loss of attachment) با عمق بیشتر از چهار میلی‌متر و به همراه عوامل محرک موضعی مشخص می‌شد دست کم از پلاک دو دندان در دو ناحیه ی بالای لثه ای با استفاده از کورت سترون و نمونه برداری زیر لثه ای با قرار دادن فتیله ی کاغذی (paper cone) درون پاکت با کورت انجام گرفت پس از پایان نمونه برداری دندانی کار پروبینگ در بیماران انجام گرفت نمونه‌ها در شرایط استریل به آزمایشگاه انتقال داده شد.^(۱۱) جداسازی باکتری به روش کشت: در مجموع از شش ناحیه (سه ناحیه در فک بالا و سه ناحیه در فک پایین) و (یک ناحیه قدام، یک ناحیه خلف سمت چپ و یک ناحیه خلف سمت راست) نمونه‌های پلاک دندان با کورت پریدونتال استریل از عمق شیار لثه ای یا پاکت پریدونتال، جمع‌آوری شد. یک نمونه در محیط ترانسپورت برای انجام کشت و یک نمونه در لوله‌های

جدول - توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده و اندازه محصول PCR^(۱۶و۱۷)

اندازه آمپلیکون (bp)	توالی پرایمرها (5'→3')	ژن هدف
329	F: 5'- TTGAAACTTCAAGGATAGGATAGAGC-3' R: 5'- GCCTAGCGTAATATCACCATTACCC-3'	<i>Cage</i>
499	F: 5'- AATACACCAACGCCTCCAAG-3' R: 5'- TTGTTGGCGCTTGCTCTC-3'	<i>cagA</i>
842	F: 5'- GTGTTTTTAACCAAGTATC-3' R: 5'- CTATAGCCASTCTCTTTCGA-3'	<i>Cag T</i>
594	F: 5'- GTTGTCGTTGTTTTAATGAA-3' R: 5'- GTCTTAAACCCACGATTA-3'	<i>HrgA</i>
259	F: 5'- GCCGATATGCAAATGAGCCGC-3' R: 5'- CAATCGTGTGGGTCTGAGC-3'	<i>VacA</i>

پس از انجام PCR محصولات موجود از دستگاه خارج و تا زمان انجام الکتروفورز در یخچال نگهداری شدند.

یافته ها:

فراوانی ژن های تحت مطالعه در نمونه بیوپسی : پلاک دندانی جمع آوری شده در مدت سه ماه از بیماران مبتلا به پریودنتیت مراجعه کننده به بیمارستانی در تهران توسط پزشک متخصص گرفته شد که ۲۲ نمونه دارای سویه هلیکوباکتر پیلوری بود. نتیجه استخراج ژنوم: محصولات استخراج ژنوم تمامی سویه ها به منظور تایید محصول DNA بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شد و باند های مربوطه ثبت و ضبط گردید.

نتایج حاصل از شناسایی مولکولی ژن های تحت مطالعه: با توجه به نتایج به دست آمده از مجموع ۱۱۱ نمونه پلاک دندانی اخذ شده از ۱۲۰ فرد شرکت کننده در این مطالعه، تعداد ۲۲ سویه (۱۹ درصد) از نظر وجود هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند که ۱۰ سویه حامل ژن های ویروالانس مختلف هلیکوباکتر پیلوری بودند. آنالیز مولکولی ژن های تحت مطالعه نشان داد که فراوانی ژن های *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* و *hrgA* نشان داد که فراوانی این ژن ها از ۱۹٪ سویه هلیکوباکتر پیلوری به ترتیب برابر ۳ (۵۷٪ درصد)،

۱/۵ میلی لیتری حاوی سرم فیزیولوژی برای انجام PCR، کشت در محیط بروسلا آگار +۱٪ نشاسته +۷-۱۰٪ و در حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد و رطوبت ۹۵٪ و فشار ۰/۵ CO₂ در انکوباتور CO₂ قرار داده شد. پس از گذشت ۳ تا ۷ هر روز در نمونه هایی که کلنی ته سنجاقی ۰/۵ تا ۲ میلی متری شبیه قطرات شبنم تشکیل شده بود، تست های بیوشیمیایی از جمله تست اوره آز، نیتрат، اکسیداز و کاتالاز انجام شد.^(۱۲، ۱۳)

روش استخراج DNA از باکتری: در این مطالعه برای استخراج DNA باکتری از کیت (CinnaPure DNA) سیناژن- ایران) با شماره PR881613 استفاده شد. جهت شروع کار ابتدا ویال های حاوی باکتری، پس از خروج از فریزر ۷۰-درجه سانتی گراد، در محیط بیرون قرار داده شده تا کاملاً ذوب شود. سپس توسط میکروسانتریفیوژ، سانتریفیوژ شده (به مدت ۵ دقیقه) و ادامه کار بر روی رسوب بدست آمده طبق دستور کیت انجام گردید.^(۱۴-۱۶) در این مطالعه از کیت استخراج DNA (DNA OiaGen, Hilden, Germany) استفاده شد که مطابق دستور العمل کارخانه استخراج DNA انجام گردید.

توالی پرایمرهای استفاده شده: توالی پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی ژنهای *VacA*, *cagA*, *cagT*, *cagE* و *hrgA* در جدول زیر آورده شده است.

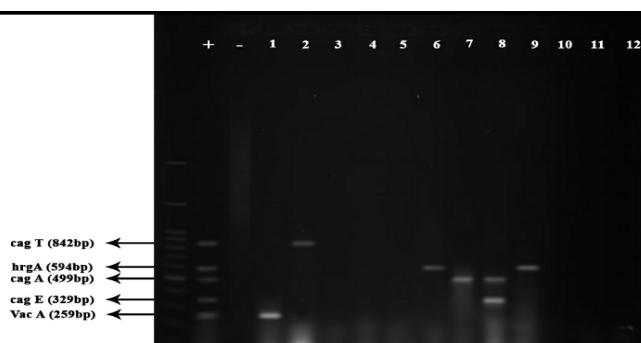
جدول - توالی پرایمری استفاده شده JW22 و JW23

JW22	(5-CGTTAGCTGCATTACTGGAGA-3)
JW23	(5-GAGCGCGTAGGCGGGATAGTC-3)

۱ (۰/۱۹ درصد)، ۲ (۰/۳۴ درصد)، ۱ (۰/۱۹ درصد) و ۱ (۰/۱۹ درصد) بود. (جدول ۱) و نمودار ۱

جدول ۱- فراوانی ژن های ویروالانس در نمونه های پلاک دندانی تحت مطالعه

ژن ویروالانس	<i>cagA</i>	<i>cagT</i>	<i>cage</i>	<i>vacA</i>	<i>hrgA</i>
تعداد 22 و (۰/۱۹)	۳ %	۱ (۰/۱۹)	۲ (۰/۳۸)	۱ (۰/۱۹)	۳ (۰/۵۷)
نمونه های واجد هلیکوباکتر	۵۷/۰				



شکل ۱- نتیجه آزمایش M-PCR بر روی نمونه های پلاک دندانی افراد مبتلا به پریودنتال، به ترتیب از چپ به راست : مارکر 100 bp DNA pulse marker، کنترل مثبت، کنترل منفی، طول باند ژن های A، hrgA، cag vac A، cag E، cag T به ترتیب ۸۴۲ و ۵۹۴ و ۴۹۹ و ۳۲۹ و ۲۵۹ جفت باز بود

بحث:

بیماری پریودنتال اختلالی است که به علت عفونت و التهاب در لثه و استخوان اطراف دندان ها بوجود می آید. در مراحل اولیه که ژنزیویت نامیده می شود، لثه ها متورم و قرمز شده و گاهی با خون ریزی همراه هستند.^(۱۷) محققین نتیجه گرفتند که حفره دهان می تواند به عنوان مخزنی برای عفونت هلیکوباکتر پیلوری و ترشحات دهانی می تواند یک ابزار مهم در انتقال این میکروارگانیسم باشد.^(۱۸)

Zhang و همکاران میزان شیوع ژن *dupA* و ارتباط آن با زخم دوازدهه را در کشور چین مورد بررسی قرار داد. Zhang نتیجه گرفت که سویه های دارای این ژن شیوع بیشتری در بیماران مبتلا به زخم دوازدهه داشته و این ژن میتواند مارکر مناسبی برای تشخیص پیش آگهی بیماری زخم دوازدهه باشد.^(۱۹)

Shiota و همکاران به بررسی رابطه بین حضور ژن *dupA* هلیکوباکترپیلوری و شکست درمانی در خط اولیه پرداختند. در این مطالعه میزان شیوع این ژن ۳۱٪ بیان شده است و بیان شده است که مقاومت به CLA در سویه های *dupA*-منفی بیشتر از سویه های مثبت می باشد در این مطالعه رابطه معنی داری بین حضور ژن *dupA* و نوع بیماری گوارشی مشاهده نشده است.^(۲۰) Oleastro و همکاران ارتباط ژن *hombB* با ایجاد زخم معده و سرطان معده را بیان کردند در مطالعه که این محققین انجام دادند سویه های دارای ژن *hombB* دارای شیوع بیشتری در بیماران PUD به خصوص زخم معده بودند.^(۲۱) Atherton و همکاران با شناسایی ژن *VacA* هلیکوباکترپیلوری به روش PCR گزارش کردند، ۷۷ سویه جدا شده از آسیا، و آمریکای شمالی و جنوبی دارای این ژن بودند که در ایجاد تومورهای دستگاه گوارش نقش دارد.^(۲۲)

William و همکاران با شناسایی هلیکوباکترپیلوری در بیماران گوارشی به روش PCR با استخراج DNA از نمونه های مدفوع گزارش کردند، از ۲۲ نمونه مورد آزمایش ۵۰٪ هلیکوباکترپیلوری مثبت بودند که در مقایسه با تست های سرولوژیکی و هیستولوژیکی، PCR به صورت ۱۰۰٪ اختصاصی و ۷۳٪ حساسیت بود.^(۲۳) Tiwari با استفاده از روش Multiplex PCR، هلیکوباکترپیلوری را در نمونه های بیوپسی بیماران گوارشی و سرطانی معده و دئودنال شناسایی کردند، آنها گزارش کردند با استفاده از این روش از ۸۲ نمونه DNA استخراج شده، ۸۱/۸٪ نمونه هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند.^(۲۴، ۲۵) Hongxiang با استفاده از روش Multiplex PCR، هلیکوباکترپیلوری را در نمونه های بیوپسی بیماران سرطانی MALT Lymphomas شناسایی کردند، آنها

وهمکاران با ردیابی ژن hMLH1 دخیل در شناسایی زود هنگام نئوپلازی‌های معده در نمونه های بیوپسی معده گزارش کردند، ۲۸ مورد آدنوما، ۱۸ مورد موکوزال کارسینوما، ۱۸ مورد کارسینوما شناسایی شد. (۳۲، ۳۳) وجود هلیکوباکتر پیلوری در دهان ممکن است به رفلاکس معده و مری مربوط بوده و یا به صورت اگزوزن به دهان وارد شده است. در مطالعه Miyabayashi و همکاران نتیجه گرفته شد که حضور هلیکوباکتر پیلوری دهانی یک مارکر مهم عفونت گاستریت مقاوم یا عود کننده می باشد. همچنین Nguyen و همکاران نتیجه گرفتند که پلاک دندانی حاوی هلیکوباکتر ممکن است مسئول عفونت مجدد معده بعد از درمان های ضد هلیکوباکتر مثل بیسموت باشد.

نتیجه گیری:

با توجه به یافته های مطالعه حاضر می توان با بررسی ژنوتیپ hrgA و انواع موتیف cagA قدرت مزمن شدن بیماری را پیش بینی نمود و از الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی مرتبط جهت طراحی پروتوکل درمانی مناسب بهره برد، به صورتی که میتوان با استفاده از برنامه دارویی مناسب جهت ریشه کنی بیماری اقدام نمود و مانع ورود عفونت به مرحله مزمن شد. بنابراین شایسته است که در کنار درمان آنتی بیوتیکی این بیماری نسبت به درمان های التهاب لثه و زدایش پلاک و آموزش موازین بهداشتی مناسب به بیماران کوشش گردد.

تقدیر و تشکر

این مقاله از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد میکروبیولوژی استخراج شده است. بدینوسیله از آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد و کلیه عزیزانی که در انجام این فعالیت علمی راهنمایی مفید و ارزنده داشتند تشکر و قدردانی می گردد.

گزارش کردند با استفاده از این روش از ۱۱۱ نمونه DNA استخراج شده، ۶۸/۸٪ نمونه هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند. (۲۶) Plummer و همکاران در ونزوئلا در بررسی تحت عنوان شناسایی هلیکوباکتر پیلوری در حفره دهان و سیستم گاسترودونال از جمعیت ونزوئلا دریافتند که از ۳۲ بیمار، هلیکوباکتر پیلوری در ۲۴ (۷۵٪) از نمونه های آنترال وجود داشت که همگی دارای گاستریت مزمن بودند. همچنین در این ۳۲ بیمار تحت مطالعه، هلیکوباکتر پیلوری در ۱۲ (۳۷/۵٪) از نمونه های دندانی این بیماران وجود داشت. در ۷ (۵۸٪) از این ۱۲ بیمار، هلیکوباکتر پیلوری در بیوپسی معده هم وجود داشت. (۲۷) Salama و همکاران وجود پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی را موقعیت های ۵۹۰- و ۳۴- بین گرو های مبتلا به پریودنتیت مهاجم و سالم از لحاظ آماری تفاوت معنی داری را نشان دادند. (۲۸) Donati و همکاران شان در مطالعه ای بر روی جمعیت قفقازی در گروه کنترل و افرادی سوئدی صورت گرفت فراوانی ژنوتیپ افرادی که مبتلا به پریودنتیت مزمن بودند از لحاظ آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. (۲۹) Lalitha Kaja و همکاران در مقاله ای مروری و تحت عنوان هلیکوباکتر پیلوری و نقش آن در پیامدهای دهان و دندان دریافتند که با پیشرفت تکنیک های بیوشیمیایی، اطلاعات جدیدی در مورد پاتوژنیسیته و فاکتورهای ویروالانس هلیکوباکتر پیلوری بدست آمد که اینتراکشن باکتری و میزبان و فاکتورهای میزبان برای بروز عفونت را نشان می دهد. در بررسی تحت عنوان ارتباط بین بیماری پریودنتال و ارتباط آن با عفونت هلیکوباکتر پیلوری در میان بالغین در ایالات متحده دریافتند که بهداشت ضعیف دهان، بوسیله پلاک های پریودنتال پیشرفته مشخص می شود که ممکن است با عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بالغین مرتبط باشد که با فقر در ارتباط است. (۳۰) Wu و همکاران با شناسایی هلیکوباکتر پیلوری به روش کشت و Multiplex PCR از نمونه های بیوپسی معده ۲۱۲ نفر بیمار، گزارش کردند، بوسیله کشت ۲۲/۲٪ و توسط Multiplex PCR ۵/۴۱٪ شناسایی شد. (۳۱) Fleisher

References:

1. Zagari RM, Rabitti S, Eusebi LH, Bazzoli F. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: A clinical practice update. *European journal of clinical investigation* 2018;48(1):e12857.
2. Gao J, Zhang Y, Gerhard M, Mejías Luque R, Zhang L, Vieth M, et al. Association between gut microbiota and *Helicobacter pylori*-related gastric lesions in a high-risk population of gastric cancer. *Frontiers in cellular and infection microbiology* 2018;8:202.
3. Wessler S. Morphologic, genetic, and biochemical characterisation of novel *Helicobacter* isolates from laboratory mice and tigers 2004; 121-29.
4. Chmiela M, Walczak N, Rudnicka K. *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles involvement in the infection development and *Helicobacter pylori*-related diseases. *Journal of biomedical science*. 2018;25(1):78.
5. Linn AK, Samainukul N, Sakdee S, Angsuthanasombat C, Katzenmeier G. A *Helicobacter pylori* Vacuolating Cytotoxin A: Mouse DHFR Fusion Protein Triggers Dye Release from Liposomes. *Current microbiology* 2018;75(2):223-30.
6. Venneman K, Huybrechts I, Gunter MJ, Vandendaele L, Herrero R, Van Herck K. The epidemiology of *Helicobacter pylori* infection in Europe and the impact of lifestyle on its natural evolution toward stomach cancer after infection: A systematic review. *Helicobacter* 2018;23(3):e12483.
7. Kazemi S, Tavakkoli H, Habizadeh MR, Emami MH. Diagnostic values of *Helicobacter pylori* diagnostic tests: stool antigen test, urea breath test, rapid urease test, serology and histology. *Journal of research in medical sciences: the official J Isfahan Med Sch* 2011; 16(9): 1097-104.
8. Brooks G, Carroll KC, Butel J, Morse S. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology 26/E: McGraw Hill Professional 2012;52-9.
9. Lim C-Y, Lee K-H, Cho M-J, Chang M-W, Kim S-Y, Myong N-H, et al. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa of patients with gastroduodenal diseases by PCR-restriction analysis using the RNA polymerase gene (*rpoB*). *J Clin Microbiol* 2003; 41(7):3387-91.
10. Johnson EM, Gaddy JA, Cover TL. Alterations in *Helicobacter pylori* triggered by contact with gastric epithelial cells. *Front Cell Infect Microbiol* 2012; 2:17.
11. Abadi ATB, Rafiei A, Ajami A, Hosseini V, Taghvaei T, Jones KR, et al. *Helicobacter pylori* *hombB*, but not *cagA*, is associated with gastric cancer in Iran *J Clin Microbiol* 2011; 49(9):3191-7.
12. Dorer MS, Talarico S, Salama NR. *Helicobacter pylori*'s unconventional role in health and disease. *PLoS pathogens* 2009; 5(10):e1000544.
13. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology-E-Book: Elsevier Health Sciences; 2014:852-96.
14. Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* *cagA* and *vacA* gene polymorphisms. *Gastroenterol* 2008;135(1):91-9.
15. Chomvarin C, Namwat W, Chaicumpar K, Mairiang P, Sangchan A, Sripa B, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA* and *babA2* genotypes in Thai dyspeptic patients. *Int J Infect Dis* 2008; 12(1):30-6.
16. Erzin Y, Koksall V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, *babA2* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* 2006; 11(6):574-80.
17. Lee A, Hazell SL, O'Rourke J, Kouprach S. Isolation of a spiral-shaped bacterium from the cat stomach. *Infect Immun* 1988; 56(11):2843-50.
18. Jones D, Curry A, Fox A. An Ultrastructural Study of the Gastric Campylobacter-like Organism 'Campylobacter pyloridis'. *Microbiol* 1985; 131(9):2335-41.
19. Zhang Z, Zheng Q, Chen X, Xiao S, Liu W, Lu H. The *Helicobacter pylori* duodenal ulcer promoting gene, *dupA* in China. *BMC Gastroenterol* 2008; 8(1):49.
20. Shiota S, Matsunari O, Watada M, Hanada K, Yamaoka Y. Systematic review and meta-analysis: the relationship between the *Helicobacter pylori* *dupA* gene and clinical outcomes. *Gut pathogens* 2010; 2(1):13.
21. Oleastro M, Cordeiro R, Ferrand J, Nunes B, Lehours P, Carvalho-Oliveira I, et al. Evaluation of the clinical significance of *hombA* a novel candidate marker of *Helicobacter pylori* strains associated with peptic ulcer disease. *J Infect Dis* 2008; 198(9):1379-87.
22. Atherton J, Cover T, Twells R, Morales M, Hawkey C, Blaser M. Simple and accurate PCR-based system for typing vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1999; 37(9):2979-82.
23. Williams MP, Pounder RE. *Helicobacter pylori*: from the benign to the malignant. *Am J Gastroenterol* 1999; 94(11):S11-S6.
24. Tiwari S, Khan A, Manoj G, Ahmed S, Abid Z, Habeeb A, et al. A simple multiplex PCR assay for diagnosing virulent *Helicobacter pylori* infection in human gastric biopsy specimens from subjects with gastric carcinoma and other gastro-duodenal diseases. *J Appl Microbiol* 2007;103(6):2353-60.
25. Ahmed K, Khan A, Ahmed I, Tiwari S, Habeeb A, Ahi J, et al. Impact of household hygiene and water source on the prevalence and transmission of *Helicobacter pylori*: a South Indian perspective. *Singapore medical journal* 2007; 48(6):543.

26. Liu H, Ye H, Ruskone-Fourmestraux A, De Jong D, Pileri S, Thiede C, et al. T (11; 18) is a marker for all stage gastric MALT lymphomas that will not respond to H. pylori eradication. *Gastroenterol* 2002; 122(5):1286-94.
27. Plummer M, Vivas J, Fauchere JL, Del Giudice G, Peña AS, Ponzetto A, Lopez G, Miki K, Oliver W, Muñoz N. Helicobacter pylori and stomach cancer: a case-control study in Venezuela. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 2000;9(9):961-5.
28. Salama NR, Gonzalez-Valencia G, Deatherage B, Aviles-Jimenez F, Atherton JC, Graham DY, et al. Genetic analysis of Helicobacter pylori strain populations colonizing the stomach at different times postinfection. *Journal of bacteriology* 2007 15;189(10):3834-45.
29. Donati C, Hiller NL, Tettelin H, Muzzi A, Croucher NJ, Angiuoli SV, et al. Structure and dynamics of the pan-genome of Streptococcus pneumoniae and closely related species. *Genome Biol* 2010; 11(10):R107.
30. Kaja SL, Kattappagari KK, Chitturi R, Prashanth L, Reddy BVR. Helicobacter pylori and its orodental implications: A review. *J Dr NTR Univ Health Sci* 2015; 4(4):203.
31. Wu CY, Kuo KN, Wu MS, Chen YJ, Wang CB, Lin JT. Early Helicobacter pylori eradication decreases risk of gastric cancer in patients with peptic ulcer disease. *Gastroenterol* 2009; 137(5):1641-8. e2.
32. Fleisher AS, Esteller M, Tamura G, Rashid A, Stine OC, Yin J, et al. Hypermethylation of the hMLH1 gene promoter is associated with microsatellite instability in early human gastric neoplasia. *Oncogene* 2001; 20(3):329-335.
33. Kiesslich R, Goetz M, Burg J, Stolte M, Siegel E, Maeurer MJ, et al. Diagnosing Helicobacter pylori in vivo by confocal laser endoscopy. *Gastroenterol* 2005; 128(7):2119-23.