بررسی فراوانی ژن‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از پلاکهای 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 Ghanbarii[1], Kumarss Amini [2], Praviz Amini [3]

[1]Dept of Microbiology, School of Basic Sciences, Sirjan Branch, Islamic Azad University, Sirjan, Iran.
[2] Associate Professor, Microbiology Dept, School of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran.
[3] Associate 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.

#، **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر کیومرث امینی **تلفن:** ۰۸۶۴۲۲۴۱۵۱۱ پست الکترونیک: **dr_kumarss_amini@yahoo.com**

خلاصه:

سابقه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری به عنوان عاملی برای زخم گاستریت و زخم پپتیک مطرح است و یک عامل خطرساز 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 هلیکوباکترپیلوری 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 ٪ ودر حرارت ۳۷ درجه و رطوبت ۹۵ درصد و فشار ۰/۵ CO2 در انکوباتور CO2قرار 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 ویرولانس مختلف هلیکوباکتر پیلوری بودند. آنالیز مولکولی ژن های مورد مطالعه نشان داد که فراوانی ژن هایcagA ، cagT، cagE، vacAو hrgA به ترتیب برابر ۳ (۰/۵۷٪)، ۱(۰/۱۹٪)، ۲(۰/۳۴٪)، ۱(۰/۱۹٪) و۱ (۰/۱۹٪) بود .

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد با وجود ژن‌های ویرلانس هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی، جهت کنترل بیماریهای مرتبط با این باکتری در دستگاه گوارش علاوه بر درمانهای آنتی‌بیوتیکی، درمان‌های پریودنتال و کنترل پلاک دندانی نیز لازم است.

کلمات کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، پلاک دندانی، بیماری پریودنتال، فراوانی، زخم معده

مقدمه:

هلیکوباکتر پیلوری ارگانیسمی 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 بیماریهای معده دوازدهه ارتباط دارد.[۱،۲] پروتئین القاء کننده واکوئل Vacuolating cytotoxin (VacA)) ، متشکل از تعدادی پلی پپتید با وزن مولکولی KDa95 میباشد که دو زیر واحد BوA 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] راههای انتقال باکتری به صورت گوارشی–دهانی و دهانی-دهانی مشاهده شده و در مسیر انتقال گوارشی _دهانی، ۵۸٪از بیماران مبتلا به هلیکوباکترپیلوری در مایع معده ای خود دارای هلیکوباکترپیلوری می باشند و می توانند مسیر آلودگی هلیکوباکتر را نشان دهند و این مسیر نقش بسیار مهمی در ابتلا کودکان به هلیکوباکترپیلوری ایفا نماید.[۵] در بررسی‌های زیادی مسیر انتقال این باکتری از طریق ترشحات معده ای و استفراغ اگر این مواد وارد دهان کودک شوند، گزارش شده است.[۶] روشهای تشخیص به دو دسته تهاجمی و غیر تهاجمی تقسیم می‌شوند. آزمایش سریع اوره آز و همچنین روش بافت شناسی از روشهای تهاجمی می باشند. روش غیر تهاجمی معمولا 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 ژنهای vacA, flaA, flaB, cysS, ureC/glmM, tnpA/B وcagA از ژنوم باکتریIS605 نشان دهنده تنوع توالی نوکلئوتیدی بسیار شدیدی در ژنهای ارتولوکوس سویه های غیر مرتبط هلیکوباکتر پیلوری می باشد که این نوع تنوع در دو سویه باکتری با ژنهای ارتولوکوس یکسان بسیار نادر است. این یافته نشان دهنده نوترکیب بسیار

بالا در بین الل های ژنی و ثبات کلونال ژنی بسیار ضعیف در هلیکوباکترپیلوری می‌باشد. با توجه به اهمیت عفونت هلیکوباکترپیلوری در بیماری های گوارشی تنوع ژنتیکی در این باکتری نقش بسزایی را در شدت عفونت ایفا می کند به عنوان مثال حضور جزیره پاتوژنسیته cagA در سویه های ایجاد کننده بیماری های گوارشی در جمعیت های مختلف (ونه تمام جمعیت ها) اثبات شده است.[۸] رونویسی و ترجمه در هلیکوباکترپیلوری بسیار مشابه سایر باکتری های 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 پلیمراز 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 می یابند.[۸،۹] سلولهای اپیتلیال مخاطی هدف اصلی جهت اتصال برخی باکتری های مهاجم نظیر هلیکوباکترپیلوری می‌باشند. سلولهای اپیتلیال باعث جدایی محیط خارجی و محیط داخلی می‌شوند. هلیکوباکترپیلوری با استفاده از سیستم ترشحی تیپ IV می-تواند به سلولهای اپیتلیال اتصال یافته و پروتئین هایی نظیرCagAرا 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 پروتئین های اصلی اتصال محکم بین دو سلول شده و باعث جدایی دوسلول و تخریب بافتی می شود. برای اتصال به سلول میزبان هلیکوباکتر پیلوری ازکادهرین‌های میزبانی نظیر E کادهرین، P120 کادهرین و همچنین B کتنین استفاده می‌کند.[۱۰] احتمالات مختلفی در خصوص حضور هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندان وجود دارد که عبارتنداز، احتمال انتقال مدفوعی-دهانی، احتمال آلودگی دندانپزشکان با این میکروب و احتمال انتقال این ارگانیسم از فردا ناقل به سالم بویژه بین افراد یک خانواده. در مطالعات اولیه نشان داده شده است که هلیکوباکتر می تواند به صورت انتخابی به گونه های فوزوباکتریوم نوکلئاتوم و پورفیرومونواس 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 می دانند. ازسوی دیگر حائریان و همکاران در سال ۱۳۹۳ نشان دادند که درمان پریودنتال تاثیری بر عود علائم دیس پپسی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری ندارد. لذا هدف از اجرای مطالعه حاضر تعیین فراوانی فاکتورهای ویرولانس هلیکوباکتر پیلوری (cagT و cagE،cagA ،vacA cagA , hrgA) جدا شده از پلاک دندانی می باشد.

مواد و روش ها:

روش نمونه گیری و کشت: در این مطالعه توصیفی- مقطعی از ۱۲۰ بیمار مبتلا به پریودنتیت مراجعه کننده به مراکز دندان پزشکی تهران نمونه گیری انجام شد. این مطالعه با کد AU-2033054 ثبت و مورد تائید قرار گرفت. تمامی نمونه ها 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 پریودنتال به همراه جداشدگی چسبندگی لثه (Loss of attachment) با عمق بیشتر از چهار میلی متر 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 نمونه ها 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) نمونه های پلاک دندان با کورت پریودنتال استریل از عمق شیار لثه ای یا پاکت پریودنتال ،جمع آوری شد. یک نمونه در محیط ترانسپورت برای انجام کشت و یک نمونه در لوله های

۱/۵ میلی لیتری حاوی سرم فیزیولوژی برای انجام PCR، . کشت در محیط بروسلا آگار +۱٪ نشاسته +۱۰-۷ ٪ ودر حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد و رطوبت ۹۵٪ وفشار ۰/۵ CO2 در انکوباتور CO2 قرار داده شد. پس از گذشت ۳تا 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، نیترات، اکسیداز وکاتالاز انجام شد.[۱۲،۱۳]

روش استخراج DNA از باکتری: در این مطالعه برای استخراج DNAباکتری 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 تاکاملاً 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 (Oiagen, Hilden, Germanyاستفاده شد که مطابق دستور العمل کارخانه استخراج DNA انجام گردید.

توالی پرایمرهای استفاده شده: توالی پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی ژنهایVacA، cagA، cagT، cagE و hrgA درجدوال زیر آورده شده است.

جدول - توالی پرایمری استفاده شده JW22 و JW23

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

جدول - توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده و اندازه محصول PCR [۱۵و۱۶]

ژن هدف	توالی پرایمرها ('3→'5)	اندازه آمپلیکون (bp)
Cage	F:5′- TTGAAAACTTCAAGGATAGGATAGAGC-3′ R:5′- GCCTAGCGTAATATCACCATTACCC-3′	329
cagA	F: 5′- AATACACCAACGCCTCCAAG-3′ R: 5′- TTGTTGGCGCTTGCTCTC-3′	499
Cag T	F: 5′- GTGTTTTTAACCAAAGTATC-3′ R: 5′- CTATAGCCASTCTCTTTGCA-3′	842
HrgA	F: 5′- GTTGTCGTTGTTTTAATGAA-3′ R: 5′- GTCTTAAACCCCACGATTAAA-3′	594
VacA	F: 5′- GCCGATATGCAAATGAGCCGC-3′ R: 5′- CAATCGTGTGGGTTCTGGAGC-3′	259

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.

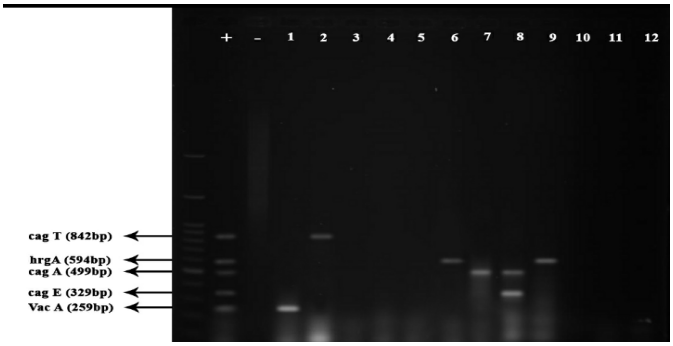
نتیجه استخراج ژنوم: محصولات استخراج ژنوم تمامی سویه ها به منظور تایید محصول DNA بر روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شد و باند های مربوطه ثبت و ضبط گردید.

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(۱۹درصد) از نظر وجود هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند که ۱۰ سویه حامل ژن های ویرولانس 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 (۰/۵۷درصد)،

۱(۰۰/۱۹درصد)، ۲(۰۰/۳۴درصد)، ۱(۰۰/۱۹درصد) و۱ (۰۰/۱۹درصد) بود. (جدول ۱) و نمودار ۱

جدول ۱- فروانی ژن های ویرولانس در نمونه های پلاک دندانی تحت مطالعه

ژن ویرولانس	*cagA*	*cagT*	*cage*	*vacA*	*hrgA*
تعداد 22 و (۱۹٪) نمونه های واجد هلیکوباکتر	۳(% ۰/۵۷)	۱(۰/۱۹٪)	۲(۰/۳۸٪)	۱(۰/۱۹٪)	۳(۰/۵۷٪)



شکل۱- نتیجه آزمایش M-PCR برروی 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 و۴۹۹ و۳۲۹ و۲۵۹ 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 ژنژیویت 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 ژنhomB با ایجاد زخم معده و سرطان معده را بیان کردند در مطالعه که این محققین انجام دادند سویه های دارای ژن homB 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 جداشده 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٪ هلیکوباکترپایلوری مثبت بودند که در مقایسه با تست‌های سرولوژیکی و هیستولوژیکی، PCR به صورت ۱۰۰٪ اختصاصی و ۷۳٪ حساسیت بود.[۲۳] Tiwari با استفاده از روش Multiplex PCR، هلیکوباکترپایلوری را در نمونه‌های 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، هلیکوباکترپایلوری را در نمونه‌های بیوپسی بیماران سرطانی MALT Lymphomas شناسایی کردند، آنها

گزارش کردند با استفاده از این روش از ۱۱۱ نمونه DNA استخراج شده، ۶۸/۸٪ نمونه هلیکوباکترپایلوری مثبت بودند.[۲۶] Plummer و همکاران در ونزوئلا در بررسی تحت عنوان شناسایی هلیکوباکتر پیلوری در حفره دهان و سیستم گاسترودئودنال 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 اماری تفاوت معنی داری را نشان دادند.[۲۸] Donati و همکاران شان در مطالعه ای بر روی جمعیت قفقازی در گروه کنترل و افرادی سوئدی صورتگرفت 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 ویرولانس 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 وهمکاران با شناسایی هلیکوباکتر پایلوری به روش کشت و Multiplex PCR ازنمونه‌های بیوپسی معده ۲۱۲ نفر بیمار،گزارش کردند، بوسیله کشت ۲۲/۲٪ وتوسط Multiplex PCR ۵/۴۱٪ شناسایی شد. [۳۱] Fleisher وهمکاران با ردیابی ژن hMLH1 دخیل در شناسایی زود هنگام نئوپلازی‌های معده درنمونه های بیوپسی معده گزارش کردند، ۲۸ مورد آدنوما،۱۸ مورد موکوزال کارسینوما،۱۸ مورد کارسینوما شناسایی شد. [۳۳، ۳۲]وجود هلیکوباکترپیلوری در دهان ممکن است به رفلاکس معده و مری مربوط بوده و یا به صورت اگزوژن 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.

نتیجه‌گیری:

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 کارشناسی‌ارشد میکروبیولوژی استخراج شده است. بدینوسیله از ازمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد و کلیه عزیزانی که در انجام این فعالیت علمی راهنمایی مفید و ارزنده داشتند تشکر و قدردانی می‌گردد.

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 homB, 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, Koksal 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 homb 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.