

بررسی فراوانی ژن‌های هلیکوباتر پیلوئی 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 پروروز 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 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: هلیکوباتر پیلوری به عنوان عاملی برای زخم گاستریت و زخم پپتیک مطرح است و یک عامل خطرساز برای سرطان معده محسوب می‌شود. شیارهای لثه در دندان افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن ممکن است به عنوان یک مخزن برای هلیکوباتر پیلوری عمل کنند. لذا، هدف از مطالعه حاضر، بررسی ژن‌های هلیکوباترپیلوری جدا شده از پلاک‌های دندانی و ارتباط آن با زخم‌های گوارشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: مطالعه از نوع توصیفی بوده و از ۱۲۰ بیمار مبتلا به پریودنتیت مراجعه کننده به مرکز دندان پزشکی تهران ۱۱۱ نمونه پلاک دندانی جداسازی شد. کشت در محیط بروسلا آگار $1+10\%$ نشاسته $7-10^+$ در حرارت 37°C درجه و رطوبت ۹۵ درصد و فشار 0.5 CO_2 در انکوباتور قرار داده شد. به منظور شناسایی مولکولی استخراج DNA انجام و سپس برای شناسایی دقیق از توالی نواحی JW22 و JW23 استفاده شد.

یافته‌ها: از مجموع ۱۱۱ نمونه پلاک دندانی اخذ شده از ۱۲۰ فرد شرکت کننده در این مطالعه، تعداد ۲۲ سویه (۱۹٪) از نظر وجود هلیکوباتر پیلوری مثبت بودند که ۱۰ سویه حامل ژن‌های ویرولانس مختلف هلیکوباتر پیلوری بودند. آنالیز مولکولی ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که فراوانی ژن‌های *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* به ترتیب برابر $3(0.57)$, $1(0.19)$, $1(0.34)$ و $1(0.19)$ بود.

نتیجه گیروی: به نظر می‌رسد با وجود ژن‌های ویرولانس هلیکوباتر 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: هلیکوباتر پیلوری، پلاک دندانی، بیماری پریودنتال، فراوانی، زخم معده

مقدمه:

نقش بسیار مهمی در ابتلا کودکان به هلیکوباترپیلوری ایفا نماید.^(۵) در بررسی‌های زیادی مسیر انتقال این باکتری از طریق ترشحات معده‌ای 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 می‌باشند. روش غیر تهاجمی معمولاً اولین اقدام تشخیصی می‌باشد. تست سرولوژی و تست تنفسی اوره و روش تشخیص بهبودی از عفونت براساس یافتن آنتی ژن در مدفوع می‌باشد.^(۷) مطالعه توالی ژنهای IS605 نشان دهنده تنوع توالی نوکلئوتیدی بسیار شدیدی در ژنهای ارتوکوس سویه‌های غیر مرتبط هلیکوباتر پیلوری می‌باشد که این نوع تنوع در دو سویه باکتری با ژنهای ارتوکوس یکسان بسیار نادر است. این یافته نشان دهنده نوترکیب بسیار

هلیکوباتر پیلوری ارگانیسمی متعلق به خانواده باسیل‌های 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) Vacuolating cytotoxin (VacA)، مشکل از تعدادی پلی پپتید با وزن مولکولی KDa95 می‌باشد که دو زیر واحد A و B را تشکیل می‌دهند مطالعات میکروسکوپی نشان می‌دهد که این پروتئین به صورت گل بوده که از شش تا هفت گلبرگ تشکیل شده است و منفذ میانی آن دارای قطری در حدود ۵ تا ۶ نانومتر می‌باشد.^(۴-۳) راههای انتقال باکتری به صورت گوارشی-دهانی و دهانی-دهانی مشاهده شده و در مسیر انتقال گوارشی-دهانی، 58.5% از بیماران مبتلا به هلیکوباترپیلوری در مایع معده ای خود دارای هلیکوباترپیلوری می‌باشند و می‌توانند مسیر آلدگی هلیکوباتر را نشان دهند و این مسیر

به گونه های فوزوپاکتريوم نوكلثاتوم و پورفيرومonas ژنژيواليس در پلاک دندان متصل شد. اين باكتري همچنین در براق، پلاک لثه و پشت زبان مشاهده شود. برخی محققین حضور هلیکوباکتر پیلوری در دهان را در نتيجه بروز رفلaks معده می دانند. ازسوی دیگر حائزیان و همکاران در سال ۱۳۹۳ نشان دادند که درمان پریودنتال تاثیری بر عود علائم دیس پیسی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری ندارد. لذا هدف از اجرای مطالعه حاضر تعیین فراوانی فاکتورهای ویرولانس هلیکوباکتر (cagT ، cagE,cagA ، vacA cagA ، hrgA) پیلوری 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 مرکز دندان پزشکی تهران نمونه گیری انجام شد. این مطالعه با کد AU- ۴۰۳۳۰۵۴ 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 جداشده چسبندگی لثه (Loss of attachment) با عمق بیشتر از چهار میلی متر و به همراه عوامل محرك موضعی مشخص می شد دست کم از پلاک دو دندان در دو ناحیه ای بالای لثه ای با استفاده از کورت سترون و نمونه برداری زیر لثه ای با قرار دادن فتیله ای کاغذی (paper cone) درون پاکت با کورت انجام گرفت پس از پایان نمونه برداری دندانی کار پروینینگ در بیماران انجام گرفت نمونه ها در شرایط استریل به آزمایشگاه انتقال داده شد.^(۱۱)

جداسازی باكتري 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

بالا در بین ال های ژنی و ثبات کلونال ژنی بسیار ضعیف در هلیکوباکترپیلوری می باشد. با توجه به اهمیت عفونت هلیکوباکترپیلوری در بیماری های گوارشی تنوع ژنتیکی در این باكتري نقش بسزایی را در شدت عفونت ایفا می کند به عنوان مثال حضور جزیره پاتوژنیته *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 باكتري های گرم منفی می باشد تاکنون تنها یک تفاوت مهم در فیوژن پروتئین کد شده توسط ژنهای *rpoC* و *rpoB* شناسایی شده که به ترتیب کد کننده زیر واحد β و β' آنزیم RNA پلیمراز هستند و در هر دو سویه J99 و ۲۶۶۹۵ وجود دارند. قطعات پپتیدوگلیکانی که توسط سیستم ترشحی تیپ ۴ کد شده توسط جزایر پاتوژنیته *cagA* به درون سلول انتقال می یابند.^(۸,۹) سلولهای اپیتلیال مخاطی هدف اصلی جهت اتصال برخی باكتري های مهاجم نظیر هلیکوباکترپیلوری می باشند. سلولهای اپیتلیال باعث جدایی محیط خارجی و محیط داخلی می شوند. هلیکوباکترپیلوری با استفاده از سیستم ترشحی تیپ IV می تواند به سلولهای اپیتلیال اتصال یافته و پروتئین هایی نظیر *CagA* را به درون سلول میزبان ترشح کند. اتصال سیستم ترشحی به سلول میزبان از طریق رسپتور اینتگرین بتا ۱ انجام می گیرد. 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 از کاکتھرین های میزبانی نظیر E کاکتھرین، P120 کاکتھرین و همچنین B کتینین استفاده می کند.^(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

جدول - توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده و اندازه مخصوص PCR

| نُن هدف | توالی پرایمرهای (5'→3') | اندازه آمپلیکون (bp) |
|--------------|---|----------------------------|
| <i>Cage</i> | F: 5'- TTGAAACTCAAGGATAGGATAGAGC-3' R: 5'- GCCTAGCGTAATATCACCATACCC-3' | 329 |
| <i>cagA</i> | F: 5'- AATACACCAACGCCCTCAAAG-3' R: 5'- TTGTGGCGCTGCTCTC-3' | 499 |
| <i>Cag T</i> | F: 5'- GTGTTTTAACCAAAGTATC-3' R: 5'- CTATAGCCASTCTCTTGCA-3' | 842 |
| <i>HrgA</i> | F: 5'- GTTGTGTTGTTTAATGAA-3' R: 5'- GTCTAAACCCCACGATTAAA-3' | 594 |
| <i>VacA</i> | F: 5'- GCCGATATGCAAATGAGCCGC-3' R: 5'- CAATCGTGTGGTTCTGGAGC-3' | 259 |

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

یافته ها:

فراوانی زن 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 زنوم: محصولات استخراج زنوم 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 زن 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 (درصد ۱۹) از نظر وجود هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند که ۱۰ سویه حامل زن های ویرولانس مختلف هلیکوباکتر پیلوری بودند. آنالیز مولکولی زن های تحت مطالعه vacA, cagE, cagT, cagA نشان داد که فراوانی زن های A و hrgA نشان داد که فراوانی این زن ها از ۱۹٪ سویه هلیکوباکتر پیلوری به ترتیب برابر ۳ (۵۷/۰ 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 قرار داده شد. پس از گذشت ۳ تا ۷ هر روز در نمونه هایی که کلنی ته سنjacaci ۰/۵ تا ۲ میلی متری شبیه قطرات شبنم تشکیل شده بود، تست های بیوشیمیایی از جمله تست اوره آز، نیترات، اکسیداز و کاتالاز انجام شد.^(۱۲، ۱۳)

روش استخراج DNA از باکتری: در این مطالعه برای استخراج باکتری از کیت DNA- (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 استفاده شد که مطابق دستور (Oigen, Hilden, Germany)

العمل کارخانه استخراج DNA انجام گردید. توالی پرایمرهای استفاده شده: توالی پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی زنهای cagE, cagT, VacA و hrgA در جدول زیر آورده شده است.

جدول - توالی پرایمی استفاده شده JW22 و JW23

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

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)

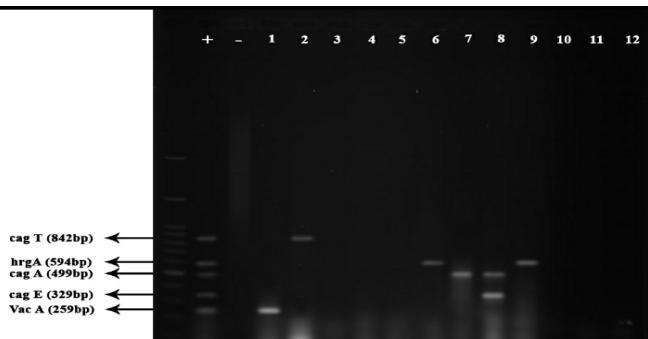
dupA و همکاران به بررسی رابطه بین حضور ژن dupA Shiota هلیکوباترپیلوری و شکست درمانی در خط اولیه پرداختند. در این مطالعه میزان شیوع این ژن ۳۱٪ بیان شده است و بیان شده است که مقاومت به CLA در سویه های dupA-منفی بیشتر از سویه های مثبت می باشد در این مطالعه رابطه معنی داری بین حضور ژن dupA و نوع بیماری گوارشی مشاهده نشده است.^(۲۰) Oleastro و همکاران ارتباط ژن homB با ایجاد رخم 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 رخم معده بودند.^(۲۱) Atherton و همکاران با شناسایی ژن VacA هلیکوباترپیلوری به روش PCR گزارش کردند، ۷۷ سویه جداسده 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 هلیکوباترپیلوری در بیماران گوارشی به روش PCR با استخراج DNA از نمونه های مدفوع گزارش کردند، از ۲۲ نمونه مورد آزمایش ۵۰٪ هلیکوباترپایلوری 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، هلیکوباترپایلوری 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٪ نمونه هلیکوباتر پیلوری مثبت بودند.^(۲۴) Hongxiang Hongxiang با استفاده از روش Multiplex PCR، هلیکوباترپایلوری را در نمونه های بیوپسی بیماران سرطانی MALT Lymphomas شناسایی کردند، آنها

۱۹۰/۰ درصد)، ۲۴۰/۰ درصد)، ۱۹۰/۰ درصد) و ۱۹۰/۰ درصد) بود. (جدول ۱) و نمودار ۱

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

| ژن ویرولانس | تعداد ۲۲ و (٪۱۹) | نمونه های | واجد هلیکوباتر |
|-------------|----------------------|-----------|----------------|
| <i>hrgA</i> | (٪۰/۵۷) ^۳ | (٪۰/۱۹)۱ | (٪۰/۵۷) |
| <i>vacA</i> | (٪۰/۳۸)۲ | (٪۰/۱۹)۱ | |
| <i>cage</i> | | | |
| <i>cagT</i> | | | |
| <i>cagA</i> | | | |



شکل ۱- نتیجه آزمایش M-PCR بر روی نمونه های پلاک دندانی افراد مبتلا به پریودنتال به ترتیب از چپ به راست: مارکر DNA pulse marker کنترل مثبت، کنترل منفی، طول باند ژن های cag T (842bp)، hrgA (594bp)، cag A (499bp)، cag E (329bp) و Vac A (259bp) به ترتیب ۸۴۲ و ۲۵۹ و ۳۲۹ و ۴۹۹ و ۵۹۴ 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 ژنژیوت 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 هلیکوباتر پیلوری و ترشحات دهانی می تواند یک ابزار مهم در انتقال این میکروارگانیسم باشد.^(۱۸)

وهمکاران با ردیابی ژن hMLH1 دخیل در شناسایی زود هنگام نتوبلازی‌های معده در نمونه‌های بیوپسی معده گزارش کردند، ۲۸ مورد آدنوما، ۱۸ مورد موکزال کارسینوما، ۱۸ مورد کارسینوما شناسایی شد.^(۳۲، ۳۳) وجود هلیکوباترپیلوری در دهان ممکن است به رفلکس 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 هلیکوباتر پیلوری دهانی یک مارکر مهم عفونت گاستریت مقاوم یا عود کننده می‌باشد. همچنین Nguyen و همکاران نتیجه گرفتند که پلاک دندانی حاوی هلیکوباتر ممکن است مسئول عفونت مجدد معده بعد از درمان‌های ضد هلیکوباتر مثل بیسموت باشد.

نتیجه‌گیری:

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان با بررسی ژنوتیپ hrgA و انواع متیف cagA قدرت مژمن شدن بیماری را پیش‌بینی نمود و از الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی مرتبط جهت طراحی پروتوكل 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 مژمن شد. بنابراین شایسته است که در کنار درمان آنتی بیوتیکی این بیماری نسبت به درمان‌های 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 ازمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد و کلیه عزیزانی که در انجام این فعالیت علمی راهنمایی مفید و ارزنده داشتند تشکر و قدردانی می‌گردد.

گزارش کردند با استفاده از این روش از ۱۱۱ نمونه DNA استخراج شده، ۶۸٪ نمونه هلیکوباترپیلوری مثبت بودند.^(۲۶) Plummer و همکاران در وزوئلا در بررسی تحت عنوان شناسایی هلیکوباتر پیلوری در حفره دهان و سیستم گاسترودئودنال از جمعیت وزوئلا دریافتند که از ۳۲ بیمار، هلیکوباتر پیلوری در ۲۴ (۷۵٪) از نمونه‌های آنترال وجود داشت که همگی دارای گاستریت مژمن بودند. همچنین در این ۳۲ بیمار تحت مطالعه، هلیکوباتر پیلوری در ۱۲ (۳۷٪) از نمونه‌های دندانی این بیماران وجود داشت. در ۷ (۵٪) از این ۱۲ بیمار، هلیکوباتر پیلوری در بیوپسی معده هم وجود داشت.^(۲۷) Salama و همکاران وجود پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی را موقعیت‌های -۵۹۰ و -۳۴ بین گروه‌های 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 صورتگرفت فراوانی ژنوتیپ افرادی که مبتلا به پریودنتیت مژمن بودند از لحاظ آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد.^(۲۹) Lalitha Kaja و همکاران در مقاله‌ای مژمنی و تحت عنوان هلیکوباتر پیلوری و نقش آن در پیامدهای دهان و دندان دریافتند که با پیشرفت تکنیک‌های بیوشیمیایی، اطلاعات جدیدی در مورد پاتوژنیته و فاکتورهای ویرولانس هلیکوباتر پیلوری بدست آمد که اینتراکشن باکتری و میزان و فاکتورهای میزان برای بروز عفونت را نشان می‌دهد. در بررسی تحت عنوان ارتباط بین بیماری پریودنتال و ارتباط آن با عفونت هلیکوباتر پیلوری در میان بالغین در ایالات متحده دریافتند که بهداشت ضعیف دهان، بوسیله پلاک‌های پریودنتال پیشرفت مشخص می‌شود که ممکن است با عفونت هلیکوباتر پیلوری در بالغین مرتبط باشد که با فقر در ارتباط است.^(۳۰) Wu و همکاران با شناسایی هلیکوباتر پیلوری به روش کشت و Multiplex PCR از نمونه‌های بیوپسی معده ۲۱۲ نفر بیمار، گزارش کردند، بوسیله کشت ۲۲٪ و توسط Fleisher ۵٪ شناسایی شد.^(۳۱)

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.