Archive of SID

ردیابی بالینی هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

امیر اسکندری [*] - **علی محمود پور** [**] - **اردشیر لفظی** [***] - **نادر ابوالفضلی** [*]

[*] استادیار گروه پریودنتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
[**] استادیار مرکز تحقیقات و توسعه کاربرد دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
[***] دانشیار گروه پریودنتیکس، دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

چکیده

بیان مساله: هلیکوباکتر پیلوری، به‌عنوان عامل بیماریزا در ایجاد گاستریت و زخم پپتیک و عامل احتمالی بروز سرطان معده شناخته می‌شود. نظر به ردیابی هلیکوباکتر در پلاک دندانی، به حفره‌ی دهانی، به‌عنوان جایگاه ثانوی آلودگی توجه شده است. با این رو، هنوز به طور کامل روشن نیست، که آیا حفره‌ی دهان به عنوان منبعی برای این باکتری عمل می‌کند.

اهداف: هدف از این بررسی این بود، که آیا حفره‌ی دهان منبعی برای این باکتری به شمار می آید، و آیا هیچ ارتباطی میان گاستریت و آلودگی پلاک دندانی وجود دارد یا نه؟

مواد و روش: در این بررسی برای به‌کارگیری روشی غیرتهاجمی با حساسیت و ویژگی بالا از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای ردیابی هلیکوباکتر پیلوری استفاده شد. نمونه‌های پلاک بالای لثه‌ای و زیرلثه‌ای از شمار 67 بیمار مبتلا به پریودنتیت گردآوری شدند، که 23 نفر از این بیماران، افزون بر ابتلا به پریودنتیت، از گاستریت نیز، رنج می‌بردند. با استفاده از ترادف ژن‌های متفاوت هلیکوباکتر پیلوری، در این بررسی برای بهینه‌سازی یک برنامه‌ی حساس و اختصاصی برای تشخیص و ردیابی این باکتری، شمار چهار جفت آغازگر الیگونوکلئوتایدی طراحی شدند. برای واکاوی آماری داده‌ها از آزمون‌های مجذور کای و فیشر استفاده شد. سطح معنادار بودن مقایسه ها، $p \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج: بنا به نتایج این بررسی، هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌ی پلاک افراد مبتلا به پریودنتیت از شیوع پایینی (5/9 درصد) برخوردار بود. بنا به بررسی‌های آماری، ارتباطی معنادار میان عفونت هلیکوباکتر در پلاک دندانی و بیماری گاستریت دیده شد (p=0/012).

نتیجه گیری: گرچه شیوع هلیکوباکتر پیلوری در پلاک‌های دندانی در میزان بسیار کمی دیده شد، اما با این رو، شاید ضروری باشد،که به آنها، به‌عنوان منبع احتمالی عود دوباره‌ی گاستریت پس از درمان این بیماری توجه شود. پیشنهاد می گردد، که در کنار درمان پادزیستی این بیماری، نسبت به درمان‌های مربوط به زدایش پلاک و آموزش موازین بهداشتی مناسب به بیماران کوشش گردد.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، پلاک دندانی، پریودنتیت، گاستریت

تاریخ دریافت مقاله: 86/9/12 **تاریخ پذیرش مقاله**: 87/3/2

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز 1387؛ **دوره‌ی نهم، شماره‌ی دو**: **صفحه‌ی** 180 **تا** 189

نویسنده‌ی مسوول مکاتبات: امیر اسکندری، تبریز، انتهای خیابان گلگشت، دانشکده‌ی دندانپزشکی، بخش پریودنتولوژی

تلفن: 09144146297 **پست الکترونیک**: amirr22@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

درآمد

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی، میله‌ای و میکروآئروفیلیک است، که به‌عنوان عامل بیماری‌زا در بیماری گاستریت و نیز، به‌عنوان عامل اصلی بیماری زخم پپتیک و دیگر زخم‌های معده و سرطانی شناخته شده است [1]. این باکتری، نخستین بار در سال 1984، به وسیله‌ی مارشال (Marshal) و وارن (Warren) از معده‌ی افراد مبتلا به گاستریت جداسازی و به‌عنوان عامل زخم پپتیک معرفی شد [2]. این باکتری در معده‌ی 95 تا 100 درصد افراد مبتلا به زخم اثنی عشر و 75 تا 85 درصد افراد دارای زخم معده یافته شده است [3]. هلیکوباکتر پیلوری در معده‌ی انسان جایگر شده و در زیر لایه‌ی مخاطی بر روی سطح سلول‌های اپیتلیالی مستقر می‌شود [4].

با توجه به سبب‌شناسی میکروبی گاستریت، این بیماری با پادزیست (آنتی‌بیوتیک) درمان می‌شود، که با وجود درمان موفق به‌دنبال تجویز پادزیست، در مواردی، برگشت پس از درمان مشاهده شد [3]. بنابراین، پژوهشگران در پی یافتن پاسخی برای علت برگشت‌های پی در پی، به دنبال درمان، به حفره‌ی دهان، به‌عنوان یک منبع ذخیره‌ی احتمالی ثانویه برای باکتری توجه کرده‌اند. به دلیل شیوع بالای باکتری‌ها در حفره‌ی دهان، می‌توان هلیکوباکتر پیلوری را، به‌عنوان زمینه‌ی طبیعی دهان فرض کرد [5]. گرچه میان پژوهشگران درباره‌ی این که، آیا پلاک دندانی می‌تواند به‌عنوان یک منبع ذخیره‌ی احتمالی برای هلیکوباکتر پیلوری باشد، اختلاف دیدگاه وجود دارد.

برای ردیابی هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی، روش‌هایی گوناگون به‌کار گرفته شده‌اند، که نتایجی گوناگون به دنبال داشته‌اند. این ریزجاندار (میکروارگانیسم) به روش کشت میکروبی و پی.سی.آر. از پلاک دندانی جدا شده است [6-9]، ولی ازیکانن (Asikainen) و چنگ (Cheng) بر این باورند، که پلاک دندانی نمی‌تواند محیطی مناسب برای این باکتری باشد [10 و 11].

بنا به بررسی‌هایی که در دانشگاه علوم پزشکی تبریز، بر روی نمونه‌های به دست آمده از معده‌ی افراد مبتلا به گاستریت انجام گرفت، آزمون اوره‌آز، به‌عنوان بهترین آزمون و در برابرکشت میکروبی، به‌عنوان ضعیف‌ترین آزمون در ردیابی و شناسایی هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌ی معده معرفی شدند [12]. اما به دلیل بودن دیگر باکتری‌های قادر به فعالیت اوره‌آز در دهان و پلاک دندانی، آزمون اوره‌آز فاقد دقت لازم برای ردیابی هلیکوباکتر پیلوری در محیط دهانی است. کشت میکروبی نیز، برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی مناسب نیست، زیرا شواهدی در دسترس هست، که لاکتوباسیل اسیدوفیلوس با آزادسازی موادی از رشد هلیکوباکتر پیلوری جلوگیری می کند [1].

گوناگونی زیاد در میان گونه‌های باکتریایی پلاک دندانی ممکن است باعث رقابت و جلوگیری از رشد هلیکوباکتر پیلوری شود. بنابراین، استفاده از یک روش تشخیصی مناسب برای ردیابی هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی ضروری به نظر می‌رسد. پی.سی.آر، روشی به نسبت دقیق برای تشخیص مقادیر بسیار اندک باکتری‌ها در میان شماری انبوه از باکتری‌های گوناگون است. از پی.سی.آر. در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی استفاده شده است. بر این پایه، میزان شیوع این باکتری در پلاک دندانی از صفر تا 100 درصد گزارش شده است [13 و 14].

به دنبال بررسی‌های گوناگون و با استفاده از آغازگرهای متفاوت، نتایج به‌دست آمده نشان داده اند،که تفاوت در مثبت شدن نتایج به حساسیت آغازگرها ارتباط دارد. بنابراین، شمار باکتری در پلاک دندانی بسیار ناچیز بوده و روش‌هایی که حساسیتی کمتر دارند، به ردیابی این شمار باکتری توانا نیستند [14 و 15]. در این پژوهش، با طراحی آغازگرهایی، که از حساسیت و اختصاصیت بالایی برخوردار باشند، کوشش شد، که میزان خطا، در ردیابی این باکتری در پلاک به حداقل رسانده شود. با توجه به این که، بود یا نبود هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی به اثبات نرسیده

www.SID.ir

Archive of SID

است و از سویی بررسی‌های گوناگون میزان شیوع متفاوت را گزارش کرده اند، هدف از این بررسی، تشخیص و ردیابی هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی در بیماران با پریودنتیت همراه با بیماری گاستریت و یا بی آن و نیز، تعیین فراوانی نسبی آن به وسیله‌ی پی.سی.آر. است.

مواد و روش

نمونه‌برداری

این یک بررسی مقطعی و به روش تحلیلی است،که در آن، 67 نفر بیمار (44 نفر، دچار پریودنتیت و 23 نفر به پریودنتیت مزمن به همراه عفونت گاستریت) از بیماران مراجعه‌کننده به بخش پریودنتیکس دانشکده‌ی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز و مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارشی در بیمارستان امام خمینی تبریز برای نمونه‌برداری برگزیده شدند. شرایط نخستین انتخاب بیماران برای نمونه‌برداری، وجود دندان در دهان، داشتن پاکت لثه‌ای با عمق بیشتر از چهار میلی‌متر، استفاده نکردن از پادزیست در مدت چهار هفته‌ی پیش از نمونه‌برداری و نبود پیشینه‌ی رفلاکس بود. پس از دریافت رضایت نامه‌ی آگاهانه، بیماران به بررسی وارد می‌شدند.

پرسشنامه‌ای برای هر بیمار تکمیل گردید. تشخیص پریودنتیت مزمن به صورت بالینی و با وجود پاکت پریودنتال 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 ناحیه‌ی بالای لثه‌ای و زیرلثه‌ای نمونه‌برداری شد. نمونه‌برداری بالای لثه‌ای با استفاده از کورت‌های سترون و نمونه‌برداری زیرلثه‌ای با قرار دادن فتیله‌ی کاغذی (Paper cone) درون پاکت پریودنتال و سپس، تراشیدن دیواره‌ی دند ان قرار گرفته درمحیط پاکت با کورت انجام گرفت. پس از پایان نمونه‌برداری از پلاک دندانی، کار پروبینگ در بیماران انجام گرفت. کار پروبینگ با استفاده از پروب مدرج ویلیامز انجام گرفت. پروب به روش موازی با محور طولی دندان، با نیروی ملایم، در نواحی میان دندانی و سطوح باکال به پاکت لثه‌ای وارد شد. سپس، با توجه به اندازه‌های حک شده در سطح پروب، عمق پاکت لثه اندازه‌گیری شد. کار پروبینگ و ارزیابی خونریزی(BOP) برای جلوگیری از تداخل با پلاک بالای لثه‌ای و زیرلثه‌ای پس از نمونه‌گیری انجام گرفت. برای ارزیابی خونریزی، به دنبال حرکت دادن پروب به موازات دیواره‌ی درونی پاکت، چنانچه پس از گذشت 30 ثانیه خونریزی وجود داشت، خونریزی آن دندان مثبت و در غیر این صورت، منفی در نظر گرفته شد و سپس، پروبینگ ناحیه برای تعیین عمق پروبینگ انجام شد. ارزیابی نمونه‌ها به وسیله‌ی یک فرد آموزش‌دیده انجام می‌گرفت.

تشخیص گاستریت به وسیله‌ی فوق تخصص گوارش انجام می‌گرفت. به این گونه، که از بیماران مشکوک به گاستریت پس از مراجعه، در مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارشی نمونه‌برداری شده و سپس، برای تشخیص ابتلا به گاستریت ناشی از هلیکوباکتر پیلوری با آزمون اوره آز، بررسی می شدند.

فراوری نمونه‌ها

واکنش‌های پی.سی.آر. بر پایه‌ی روش محمودپور و در حجم 25 میکرولیتر انجام گرفتند [15]. نمونه‌ها، جداگانه در درون میکروتیوب‌های نیم میلی‌لیتری دارای400 میکرولیتر بافر انتقال (10 میلی‌مول تریس و50 میلی‌مول کلرورپتاسیم، اسیدیته 8/0) قرار داده شده و به آزمایشگاه فرستاده شدند. پیش از بیرون آوردن فتیله‌ی کاغذی، هر یک از میکروتیوب‌ها به مدت 10 ثانیه ورتکس شدند. برای ترسیب باکتری‌ها (Bacterial precipitation)، میکروتیوب‌ها به مدت 3 دقیقه در سرعت 8000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در حدود 300 میکرولیتر از مایع درون میکروتیوب‌ها بیرون آورده شده و با ورتکس دوباره، باکتری‌های ترسیب شده در حجم 100 میکرولیتر برجا مانده به

www.SID.ir

Archive of SID

حالت تعلیق درآورده شدند. با استفاده از دستگاه ترمال سایکلر، نمونه‌ها در دمای 95 درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت 15 دقیقه انکوبه شده و دوباره، با انجام سانتریفیوژ، همه‌ی مواد غیرمحلول ترسیب شدند. مرحله‌ی مایع محتوی اسیدهای نوکلئیک تا انجام پی.سی.آر. در برودت منفی 20 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

استخراج دی.ان.ای

برای استخراج دی.ان.ای. از نمونه‌های بالینی به 100 میکرولیتر از مرحله‌ی مایع دارای اسیدهای نوکلئیک حجم برابری از بافر استخراج (دارای 100 میلی‌مول تریس، 10 میلی‌مول ای.دی.تی.ای.، دو درصد اس.دی.اس.، اسیدیته 8/0) افزوده شد. پس از افزودن این بافر، برابر دو درصد حجم نهایی محلول بتا-مرکاپتواتانول افزوده و میکروتیوب، به مدت 30 دقیقه در حمام بن ماری 70 درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از بیرون آوردن نمونه، برابر یک سوم حجم آن استات پتاسیم سه مول، اسیدیته‌ی 5/5 افزوده شده و به مدت 15 دقیقه در سرمای 10- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. نمونه به مدت 10 دقیقه با سرعت 10000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و مرحله‌ی مایع به میکروتیوب تازه‌ای منتقل شد. برابر حجم نمونه، ایزوپروپانول افزوده شده و میکروتیوب، به مدت یک ساعت در سرمای منفی20 درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. برای ترسیب دی.ان.ای.، نمونه‌ی به مدت 15 دقیقه در سرعت 15000 دور در دقیقه و سرمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. پس از خالی کردن محتویات مایع از میکروتیوب، رسوب دی.ان.ای. به وسیله‌ی اتانول 70 درصد شسته و در هوای آزمایشگاه خشک شد. فراورده پایانی در حجم 50 میکرولیتر آب سترون حل شده و تا انجام پی.سی.آر. در سرمای منفی 20 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

انجام واکنش پی.سی.آر.

برای انجام پی.سی.آر. چهار جفت آغازگر طراحی شد،که ژن‌های مورد هدف و ترادف نوکلئوتیدی این آغازگرها در جدول 2و 1 آورده شده است. واکنش‌های پی.سی.آر. در حجم 25 میکرولیتر انجام گرفتند. برنامه‌ی استفاده شده، شامل یک چرخه‌ی واسرشتگی اولیه (Primary denaturation cycle) به مدت 4 دقیقه در 94 درجه‌ی سانتی‌گراد و 35 چرخه، شامل مرحله‌ی واسرشتگی به مدت 30 ثانیه در 94 درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله‌ی اتصال آغازگرها به مدت 45 ثانیه در 55 درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله‌ی سنتز دی.ان.ای. به مدت 1 دقیقه در 72 درجه‌ی سانتی‌گراد (در برابر هر 1000 جفت نوکلئوتید از دی.ان.ای. مورد تکثیر یک دقیقه زمان در نظر گرفته شد)، مرحله‌ی تکمیل سنتز، به مدت 10 دقیقه در دمای 72 درجه‌ی سانتیگراد و در پایان مرحله خنک کردن در 4 درجه سانتی‌گراد و به مدت 10 دقیقه انجام گرفت. پس از پایان برنامه‌ی یاد شده، فراورده های پی.سی.آر. بی‌درنگ برداشته شده و تا زمان انجام الکتروفورز، در سرمای منفی 20 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

***جدول 1:** ژن های مورد استفاده برای طراحی آغازگرها از ژنوم ترادف‌یابی شده‌ی هلیکوباکتر پیلوری*

نام آغازگرها	ژن مورد هدف	بلندی قطعه‌ی مورد تکثیر(bp)
Hp 1F + 1R	کموتاکسیز پروتئین(che V) [1]	978
Hp 2F + 2R	آدنوزین/سایتوزین دی.ان.ای. متیل ترنسفراز [2]	738
Hp 3F + 3R	هیپوتتیکال پروتئین [3]	1228
Hp 4F + 4R	Cag پاتوژنیسیتی ایسلند پروتئین (cag 26) [4]	1515

1. Chemotaxis protein(cheV)
2. Adenosine/cytosine DNA methyltransferase
3. Hypothetical protein
4.Cag pathogenicity island protein (cag 26)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول 2: *ترادف‌های مربوط به آغازگرهای اختصاصی هلیکوباکتر پیلوری*

نام آغازگر ها	ترادف نوکلئوتیدی آغازگر ها
Hp 1F	5´ gaa gtc atg gct gat agt tta 3´
Hp 1R	5´ tag tgc tgt att ttt tca tgc taa 3´
Hp 2F	5´ ctc ttt cat aag cta ctc ctt 3´
Hp2R	5´ agc gat ggt tat gcc taa aaa 3´
Hp 3F	5´ taa agg aga aat atc atg gta aca 3´
Hp3R	5´ ttt atc aaa gaa act att ga 3´
Hp 4F	5´ 5´aca atg act aac gaa act att ga 3´ 3
Hp 4R	5´ aca tca cgc cat cat gtt tta 3´

برای واکاوی آماری داده‌های گردآوری شده از نرم‌افزار SPSS V13 استفاده شد. برای توصیف وجود هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی از فراوانی و درصد و برای مقایسه‌ی رابطه گاستریت، عمق پاکت و خونریزی به هنگام پروبینگ، با نتایج پی.سی.آر پلاک دندانی از آزمون مجذور کای و فیشر استفاده شد. سطح معنادار بودن یافته‌ها، $p\leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

بررسی فراوانی هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های پلاک دندانی:

به دنبال انجام پی.سی.آر. بر روی نمونه‌های پلاک دندانی از 67 بیمار شرکت داده شده در بررسی، تنها چهار بیمار به عفونت هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی مبتلا تشخیص داده شدند (5/97 درصد).

پیوند میان گاستریت و عفونت هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی:

تنها در پلاک دندانی چهار نفر بیمار از 23 بیمار دچار گاستریت، هلیکوباکتر پیلوری ردیابی شد، در حالی‌که در 44 بیمار دیگر، که تنها به پریودنتیت مبتلا بودند، هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی دیده نشد. همه‌ی این 23 بیمار، در بررسی با آزمایش اوره‌آز سریع، به عفونت هلیکوباکتر پیلوری معده و دارای پریودنتیت‌ای مزمن مبتلا تشخیص داده شده بودند. بنا بر آزمون فیشر، ارتباطی معنادار میان گاستریت و عفونت هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی دیده شد ($p< 0/05$).

پیوند میان خونریزی به هنگام پروبینگ و عفونت هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های پلاک‌های دندانی:

سه مورد(75درصد) از نمونه‌های پلاک دندانی با عفونت هلیکوباکتر پیلوری دارای خونریزی به هنگام پروبینگ در معاینه‌ی بالینی و یک مورد (25درصد) از نمونه‌های پلاک بی‌هلیکوباکتر پیلوری دارای خونریزی به هنگام پروبینگ به هنگام معاینه‌ی بالینی بودند. بنا بر آزمون فیشر، ارتباطی معنادار میان خونریزی به هنگام پروبینگ و نتایج پی.سی.آر پلاک دندانی دیده نشد ($p>0/05$).

بحث

وجود هلیکوباکتر پیلوری در حفره‌ی دهان افزون بر این‌که می‌تواند، به‌عنوان منبع احتمالی آلودگی دوباره‌ی فرد درمان شده به دنبال ابتلا به گاستریت،

www.SID.ir

Archive of SID

عمل کند، می‌تواند از فردی به فرد دیگر هم منتقل گردد. بنابراین، باید توجه‌ی ویژه به ردیابی این باکتری در پلاک دندانی و درمان آن شود. بررسی‌های گوناگون با روش‌های متفاوت به ردیابی هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی پرداخته‌اند. در بررسی کنونی، برای بررسی عفونت هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی از روش پی.سی.آر. با آغازگرهای گوناگون استفاده شد. ویژگی این آغازگرها با روش‌های گوناگون مورد بررسی و کارایی آن تایید شده است. در بررسی پیشاهنگ، بنا به نبود دسترسی فوری به باکتری‌های جداشده استاندارد و گونه‌های نزدیک هلیکوباکتر پیلوری، شماری از نمونه‌های بالینی خالص‌سازی و شناسایی شده برای تعیین ویژگی آغازگرها به کار گرفته شدند.

از میان 67 بیماری که بررسی شدند، 44 بیمار دارای پریودنتیت مزمن بی‌عفونت گاستریت بوده و 23 نفر، دارای پریودنتیت به همراه گاستریت بودند. در هیچ یک از 44 بیمار مبتلا به پریودنتیت‌ی مزمن بی‌عفونت گاستریت، هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی ردیابی نشد، در حالی که در پلاک دندانی چهار بیمار از 23 بیمار (17/39درصد) مبتلا به پریودنتیت‌ی مزمن به همراه عفونت گاستریت، هلیکوباکتر پیلوری با روش پی.سی.آر. ردیابی شد. بر پایه‌ی نتایج این بررسی، ارتباطی معنادار میان گاستریت و وجود هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندانی به دست آمد ($p<0/05$). بنابراین، بهتر است، که در درمان بیماران مبتلا به گاستریت، توجهی ویژه به دهان، به‌عنوان منبع احتمالی آلودگی پس از درمان شود.

در بررسی کنونی، همه‌ی بیمارانی، که پلاک دندانی آنها آلوده به عفونت هلیکوباکتر پیلوری نشان داده شد، دارای عمق پاکت بالای چهار میلی‌متر بودند و سه بیمار از چهار بیمار آلوده به عفونت هلیکوباکتر پیلوری، پلاک دندانی دارای خونریزی به هنگام پروبینگ نیز، بودند. نتایج این بررسی با نتایج بررسی‌های انجام گرفته در اروپا [16] و کشورهایی مانند ژاپن [13]، چین [17و 18]، کره جنوبی [19]، تایوان [20] و هند [21]، که میزان هلیکوباکتر پیلوری را در دهان بسیار کم گزارش کردند، همخوانی دارد. یافته های این بررسی با نتایج بررسی‌های انجام گرفته در کشورهایی مانند ترکیه [14] و پژوهشی، که در دانشکده‌ی دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام گرفت [22]، همخوانی ندارد، چرا که در این بررسی‌ها، در هیچ یک از نمونه‌ها هلیکوباکتر پیلوری را ردیابی نکردند. افزون بر آن، ریجیو (Riggio) و لنون (Lennon) نیز، میزان شیوع این باکتری را در پلاک دندانی به نسبت بالا گزارش کردند، که با بررسی کنونی همخوان نیست [23]. پژوهشی در آرژانتین [24] انجام گرفت، که پلاک دندانی هلیکوباکتر پیلوری در دهان تنها در یک نمونه نشان داده شد و اظهار کردند، که وجود هلیکوباکتر پیلوری در دهان ممکن است به رفلاکس معده و مری مربوط بوده و یا به صورت اگزوژن به دهان وارد شده است. این بررسی نیز، با بررسی کنونی، همخوانی نداشت.

در بررسی بات (Batt) و همکاران [25]، 100 درصد نمونه‌ی پلاک‌ها، با آزمایش اوره‌آز و 80 درصد نمونه‌ها با آزمون بافت شناسی مثبت گزارش شد. این بررسی با نتایج بررسی کنونی، که فراوانی هلیکوباکتر پیلوری را کم نشان می‌دهد مغایرت دارد. البته، باید به این نکته توجه کرد، که در محیط دهان باکتری‌هایی وجود دارند،که آنزیم اوره‌آز تولید می‌کنند و ممکن است بر نتایج آزمون اوره‌آز سریع اثر گذاشته و به نتایج مثبت کاذب منجر شوند. همچنین، در این بررسی، همزمانی میان وجود هلیکوباکتر پیلوری در معده و دهان مشاهده شد، که این مساله با نتایج بررسی کنونی همخوان است. البته، گفتنی است،که علت شیوع بالاتر هلیکوباکتر پیلوری در این بررسی نسبت به بررسی کنونی می‌تواند به پاسخ‌های مثبت کاذبی مربوط باشد، که در اثر استفاده از آزمون اوره آز یا بافت شناسی به دست آمده‌اند.

مارتنیز- گومیز (Martinez-Gomis) و همکاران، میزان شیوع این باکتری را با روش پی.سی.آر. در حفره

www.SID.ir

Archive of SID

دهان افراد غیر مبتلا به گاستریت، صفر گزارش کردند [26]، که با یافته های بررسی کنونی درباره‌ی افراد غیر مبتلا به گاستریت همخوان است.

جبارا (Gebara) و همکاران، با ستفاده از روش پی.سی.آر. درصد شیوع هلیکوباکتر پیلوری را در محیط دهان افراد مبتلا به گاستریت بالا گزارش کردند [27]، که بیشتر از میزان نشان داده شده در بررسی کنونی است، اما از سویی کیگنل (Kignel) و همکاران، میزان شیوع این باکتری را در پلاک دندانی افراد مبتلا به گاستریت در حدود پنج درصد گزارش و بیان کردند، که بزاق و پلاک بالای لثه‌ای، احتمالا منبعی برای این باکتری نیست [28].

گرچه، روش پی.سی.آر. نسبت به دیگر روش‌های تشخیصی دارای حساسیت و ویژگی بیشتر است [29] و به ردیابی مقادیر بسیار اندک باکتری تواناست، اما میزان این حساسیت و ویژگی، به آغازگرهای به‌کار رفته بستگی دارد، که می‌توانند نتیجه را تغییر دهند. به سخن دیگر، در استفاده از آغازگرهای مربوط به ژن اوره‌از، وجود باکتری‌های دارای این ژن در محیط دهانی می‌تواند عاملی مخدوش‌کننده در ردیابی هلیکوباکتر باشد. در این بررسی، از آغازگرهای اختصاصی هلیکوباکتر استفاده گردید. به طور کلی، بایستی در نظر داشت، که حتی در صورت استفاده از روش پی.سی.آر. برای ردیابی این باکتری در حفره‌ی دهان، میزان شیوع آن از صفر تا 90 درصد می‌تواند متغیر باشد، که مسایلی، چون نژاد افراد مورد بررسی و اختلافات روش می‌توانند در این امر دخیل باشند [30].

در بررسی کنونی، میان عمق پاکت و بود یا نبود خونریزی به هنگام پروبینگ با وجود هلیکوباکتر پیلوری در پلاک ارتباطی معنادار به دست نیامد. این بررسی با بررسی‌های انجام شده درکشورهای چین [18 و 19] و کره جنوبی [20] همخوان نمی‌باشد، که این مساله می‌تواند در پیوند با شمار اندک نمونه‌های مثبت به دست آمده در بررسی کنونی باشد، که باعث معنادار نشدن نتایج به دست آمده است.

بررسی‌های بیشتر لازم است تا آشکار شود، که آیا بودن این باکتری در دهان همیشگی است، یا این‌که، در نتیجه‌ی رفلاکس معده و مری به دهان انتقال می‌یابد، که البته در بررسی کنونی، بیماران با پیشینه‌ی رفلاکس از بررسی کنار گذاشته شده بودند. در صورت ثابت شدن وجود همیشگی این باکتری در دهان، عوامل احتمالی برای جایگیری باکتری باید شناسایی شوند. افزون بر آن، درباره‌ی همسان بودن ژنوتیپی هلیکوباکتر پیلوری موجود در دهان و معده، به انجام بررسی‌های تکمیلی بیشتر نیاز هست، در صورت اثبات همسانی ژنوتیپی میان هلیکوباکتر پیلوری موجود در معده و دهان بایستی توجهی ویژه برای از میان بردن این باکتری از دهان شود. جبارا (Gebara) و همکاران نشان دادند،که در افراد مبتلا به گاستریت، احتمال برجا ماندن هلیکو باکتر پیلوری در حفره‌ی دهان همچنان به دنبال درمان با پادزیست وجود دارد [31]، که این مساله می‌تواند باعث برگشت دوباره‌ی بیماری گردد. بر پایه‌ی بررسی انجام گرفته در این پژوهش، پنداشته می‌شود، که هلیکوباکتر پیلوری در حفره‌ی دهان افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن و دارای گاستریت وجود دارد.

نتیجه گیری

گرچه شیوع هلیکوباکتر پیلوری در پلاک‌های دندانی در میزانی بسیار ناچیز دیده شد، اما با این حال، شاید ضروری باشد که به آنها، به‌عنوان منبع احتمالی برگشت دوباره‌ی گاستریت پس از درمان این بیماری، توجه کرد. به سخن دیگر، ممکن است که حفره‌ی دهانی را، به‌عنوان مخزن ثانوی جایگیری هلیکوباکتر پیلوری مورد توجه قرار داد. بنابراین شایسته است، که در کنار درمان پادزیستی این بیماری، نسبت به درمان‌های التهاب لثه و زدایش پلاک و آموزش موازین بهداشتی مناسب به بیماران کوشش گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

پیشنهادها

با توجه به محدودیت‌های این بررسی، مانند کم بودن شمار نمونه ها و مقطعی بودن آن، انجام بررسی‌های با حجم نمونه‌ی بیشتر و انجام بررسی های مداخله‌ای پیشنهاد می‌شود. افزون بر آن، ضروری است درباره‌ی همسانی ارثی هلیکوباکتر پیلوری موجود در دهان و معده، بررسی های بیشتر انجام شود.

همچنین پیشنهاد می‌گردد، که برای پیشگیری از ابتلای دوباره‌ی بیماران مبتلا به گاستریت پس از درمان با پادزیست، درمان‌های پیشگیرانه، چون درمان‌های حذف پلاک و آموزش بیماران برای بهبود وضعیت بهداشت حفره‌ی دهان در کنار درمان‌های پادزیستی انجام گیرد.

سپاسگزاری

به این‌وسیله، از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز،که امکان انجام این بررسی را فراهم کردند و نیز، از جناب آقای دکتر صومی در مرکز تحقیقات بیماری‌های کبد و دستگاه گوارش سپاسگزاری می‌گردد.

******

References

1. Clayton CL, Kleanthous H, Coates PJ, Morgan DD, Tabagchali S. Sensitive detection of Helicobacter pylori by using polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1992; 30:192-200.
2. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984; 1: 1311-1315.
3. Atherton JC, Blaster MJ. Helicobacter pylori infections. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser S, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison Principles of Internal Medicine. 16th ed. New York: MCGraw-Hill; 2005. p. 886-897
4. Kilmartin CM. Dental implications of Helicobacter pylori. J Can Dent Assoc. 2002; 68: 489-493.
5. Shankaran K, Desai HG. Helicobacter pylori in dental plaque. J Clin Gastroenterol 1995; 21: 82-84. Review
6. Shames B, Kradjen S, Fuksa M, Babida C, Penner JL. Evidence for the occurrence of the same strain of Campylobacter pylori in the stomach and dental plaque. J Clin Microbiol 1989; 27: 2849-2850.
7. Krajden S, Fuksa M, Anderson J, Kempston J, Boccia A, Petrea C, et al. Examination of human stomach biopsies, saliva, and dental plaque for Campylobacter pylori. J Clin Microbiol 1989; 27: 1397-1398.
8. Majmudar P, Shah SM, Dhunjibhoy KR, Desai HG. Isolation of Helicobacter pylori from dental plaques in healthy volunteers. Indian J Gastroenterol 1990; 9: 271-272.
9. Hardo PG, Tugnait A, Hassan F, Lynch DA, West AP, Mapstone NP, et al. Helicobacter pylori infection and dental care. Gut 1995; 37: 44-46.

www.SID.ir

Archive of SID

10. Asikainen S, Chen C, Slots J. Absence of Helicobacter pylori in subgingival samples determined by polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol 1994; 9: 318-320.

11. Cheng LH, Webberlry M, Evans M, Hanson N, Brown R. Helicobacter pylori in dental plaque and gastric mucosa. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1996; 81: 421-423.

12. فتاحی براهیم، فخرالسادات میرمهدوی، تلقینی شهلا. مقایسه تست های مختلف تشخیصی هلیکوباکترپیلوری از طریق آندوسکوپی. مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تبریز 1377؛ دوره 32، بهار، شماره 37: صفحه های 75 تا 85.

13. Song Q, Lang T, Spahr A, Adler G, Bode G. Characteristic distribution pattern of Helicobacter pylori in dental plaque and saliva detected with nested PCR. J Med Microbiol 2000; 49: 349-353.

14. Sahin FI, Tinaz AC, Simşek IS, Menevşe S, Görgül A. Detection of Helicobacter pylori in dental plaque and gastric biopsy samples of Turkish patients by PCR-RFLP. Acta Gastroenterol Belg 2001; 64: 150-152.

15. محمودپور محمدعلی.کاربرد بیوتکنولوژی با مروری در بیولوژی مولکولی. چاپ اول. تبریز: انتشارات عمیدی.1381، صفحه های 54 تا 94.

16. Song Q, Haller B, Ulrich D, Wichelhause A, Adler G, Bode G. Quantitation of Helicobacter pylori in dental plaque samples by competitive polymerase chain reaction. J Clin Pathol 2000; 53: 218-222.

17. Hu W, Cao C, Meng H. Helicobacter pylori in dental plaque of periodontitis and gastric disease patients. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi 1999; 34: 49-51. Chinese.

18. Hu W, Cao C, Meng H, Zhang J, Ma D, Zhang L. Detection and analysis of Helicobacter pylori in oral cavity and stomach from chronic gastritis patients. Zhonghua Yi Xue Za Zhi 2002; 82:1037-1041.

19. Kim N, Lim SH, Lee KH, You JY, Kim JM, Lee NR, et al. Helicobacter pylori in dental plaque and saliva. Korean J Intern Med 2000; 15: 187-194.

20. Suk FM, Chen SH, Ho YS, Pan S, Lou HY, Chang CC, et al. It is difficult to eradicate Helicobacter pylori from dental plaque by triple therapy. Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei) 2002; 65: 468-473.

21. Kamat AH, Mehta PR, Natu AA, Phadke AY, Vora IM, Desai PD, Koppikar GV. Dental plaque: an unlikely reservoir of Helicobacter pylori. Indian J Gastroenterol 1998; 17:138-140.

22 . عبدالصمدی حمیدرضا، هوشمند بهزاد، محمدعلیزاده امیرهوشنگ. بررسی وجود هلیکوباکترپیلوری در مخاط معده، پلاک زیر لثه‌ای و پاکت پریودنتال در بیماران مبتلا به سوء هاضمه غیر زخمی به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR). مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد 1384؛ دوره 29، بهار و تابستان، شماره 2-1: صفحه های 87 تا 90.

23. Riggio M.P, Lennon A. Identification by PCR of Helicobacter pylori in subgingival plaque of adult periodontitis patients. J Med Microbiol 1999; 48: 317-322.

www.SID.ir

Archive of SID

24. Berroteran A, Perrone M, Correnti M, Cavazza ME, Tombazzi C, Goncalvez R, et al. Detection of Helicobacter pylori DNA in the oral cavity and gastroduodenal system of a Venezuelan population. J Med Microbiol 2002; 51: 764-770.

25. Batt AK, Khan AA, Khan AA, Izhar M, Alam A, Shah SW, et al. Correlation of Helicobacter pylori in dental plaque and gastric mucosa of dyspeptic patients. J Pak Med Assoc 2002; 52:196-200.

26. Martinez-Gomis J, Diouf A, Lakhssassi N, Sixou M. Absence of Helicobacter pylori in the oral cavity of 10 non-dyspeptic subjects demonstrated by real-time polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol 2006; 21: 407-410.

27. Gebara EC, Pannuti C, Faria CM, Chehter L, Mayer MP, Lima LA. Prevalence of Helicobacter pylori detected by polymerase chain reaction in the oral cavity of periodontitis patients. Oral Microbiol Immunol 2004; 19: 277-280.

28. Kignel S, de Almeida Pina F, André EA, Alves Mayer MP, Birman EG. Occurrence of Helicobacter pylori in dental plaque and saliva of dyspeptic patients. Oral Dis 2005; 11: 17-21.

29. Teoman I, Ozmeriç N, Ozcan G, Alaaddinoğlu E, Dumlu S, Akyön Y, Baloş K. Comparison of different methods to detect Helicobacter pylori in the dental plaque of dyspeptic patients. Clin Oral Investig 2007; 11: 201-205. Epub 2007 Feb 20.

30. Nguyen AM, el-Zaatari FA, Graham DY. Helicobacter pylori in the oral cavity. A critical review of the literature. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1995; 79: 705-709.

31. Gebara EC, Faria CM, Pannuti C, Chehter L, Mayer MP, Lima LA. Persistence of Helicobacter pylori in the oral cavity after systemic eradication therapy. J Clin Periodontol 2006; 33: 329-333.

www.SID.ir