

# بررسی وجود هلیکوباکتر پیلوری در مخاط معده، پلاک زیر لثه‌ای و پاکت پریودنتال در بیماران مبتلا به سوء هاضمه غیر زخمی به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)

دکتر حمیدرضا عبدالصمدی\*، دکتر بهزاد هوشمند\*\*، دکتر امیر هوشنگ محمدعلیزاده\*\*\*

\* استادیار و مدیر گروه بخش بیماری های دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

\*\* استادیار و مدیر گروه بخش پرپودنتیکس دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

\*\*\* استادیار بخش داخلی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

تاریخ ارائه مقاله: ۸۳/۱۱/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۸۴/۴/۲۴

**Title:** Evaluation the existance of the helicobacter pylori in stomach, subgingival plaque and samples taken from periodontal pockets in dyspeptic patients by polymerase chain reaction (PCR)

**Authors:**

Abdolsamadi HR. Assistant Professor\*, Hooshmand B. Assistant Professor\*\*, Mohammad Alizadeh AH. Assistant Professor\*\*\*

**Address:**

\* Dept of Oral Medicine, School of Dentistry, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

\*\* Dept of Periodontics, School of Dentistry, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

\*\*\* Dept of Internal Medicine, School of Medicine, Hamedan University of Medical Sciences, Hamedan, Iran

**Introduction:**

Dental plaque and periodontal pockets might be a reservoir for helicobacter pylori which is a factor for recurrence of alimentary system problems. The aim of this study was assessment of helicobacter pylori in dental plaque, periodontal pockets and stomach samples of patients with dyspepsia.

**Materials and Methods:**

In this descriptive study, 96 patients (45 Males & 51 females) referred to Ecbatan hospital with dyspeptic complaints, were randomly selected. After filling out the questionnaire, samples of subgingival plaque and periodontal pocket were prepared in every patient. Then the patients were examined by endoscopy. All the samples were collected and were assessed for detection of helicobacter pylori (HP) by polymerase chain reaction (PCR).

**Results:**

In 96 of dyspeptic patients with mean age of 37.28 yr, negative PCR in all samples was detected.

**Conclusion:**

It can be concluded that dental plaque and periodontal pockets could not be a reservoir for HP, and do not play a role in recurrence or incidence of dyspepsia in these patients.

**Key words:**

Helicobacter pylori, polymerase chain reaction, dyspepsia, dental plaque, periodontal pocket.

*Journal of Dentistry. Mashhad University of Medical Sciences 2005; 29: 87-90.*

## چکیده

### مقدمه:

پلاک دندانی و پاکت پریودنتال می تواند بعنوان یک منبع ذخیره هلیکوباکتر پیلوری (Hp) که عاملی برای عود ناراحتی های سیستم گوارشی می باشد، مدنظر قرار گیرد. هدف از این مطالعه، بررسی وجود این باکتری در نمونه های پلاک زیرلثه ای و پاکت پریودنتال و نمونه های گرفته شده از مخاط معده بیماران مبتلا به سوء هاضمه غیرزخمی بود.

### مواد و روش ها:

در این مطالعه توصیفی ۹۶ بیمار (۴۵ مرد و ۵۱ زن) به طور اتفاقی از بین بیماران مبتلا به سوء هاضمه غیرزخمی مراجعه کننده به بخش گوارش بیمارستان اکباتان انتخاب شدند پس از تکمیل پرسشنامه نمونه های پلاک میکروبی زیر لثه ای و نمونه های پاکت پریودنتال از هر فک در بیماران تهیه و سپس از بیماران به روش آندوسکوپی از مخاط معده نمونه گرفته شد و نمونه های تهیه شده برای حضور این میکروارگانیسم با روش PCR (واکنش زنجیره ای پلیمرز) مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:**

از ۹۶ بیمار با میانگین سنی ۳۷/۲۸ سال نتایج آزمایش تمام نمونه‌ها منفی بود.

**نتیجه‌گیری:**

با نتایج بدست آمده از این تحقیق می‌توان گفت که پلاک دندان‌ها و پاکت پریودنتال نمی‌تواند بعنوان محل ذخیره این باکتری و عاملی برای بروز و یا عود سوءهاضمه غیرزخمی در این بیماران مطرح باشد.

**کلید واژه‌ها:**

هلیکوباکترپیلوری، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، سوء هاضمه غیرزخمی، پلاک دندان‌ها، پاکت پریودنتال.

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد / سال ۱۳۸۴ جلد ۲۹ / شماره ۲ و ۱

**مقدمه:**

و ارتباط آن با وضعیت بهداشت دهان اعلام کرد که در نمونه‌های معده کشت این باکتری مثبت بوده ولی کشت میکروبی در پلاک دندان‌ها منفی بود<sup>(۵)</sup>. Asikainen نتوانست با روش PCR در پلاک‌های زیر لثه‌ای این باکتری را پیدا کند و نتیجه گرفت که این میکروارگانیسم قادر به زیست در این محل نمی‌باشد<sup>(۶)</sup>. با این حال گزارشات ضدو نقیضی در این خصوص وجود دارد. در نهایت هدف از این پژوهش دستیابی به وجود این باکتری در مخاط معده و پلاک‌های زیر لثه‌ای و پاکت‌های پریودنتال در بیماران مبتلا به سوءهاضمه غیرزخمی بود. لذا با توجه به میزان شیوع بسیار زیاد اختلالات گوارشی از جمله سوءهاضمه غیرزخمی احتمال وجود این باکتری در حفره دهان به عنوان مکانی برای ذخیره آن مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:**

این مطالعه از نوع توصیفی مقطعی بود. Cross sectional descriptive و افراد مورد مطالعه از بیماران مبتلا به سوء هاضمه غیرزخمی مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان اکباتان انتخاب شدند. تعداد ۹۶ بیمار با علائم سوءهاضمه غیرزخمی (تهوع، نفخ، سوزش معده و سیری زودرس) از بین بیماران مراجعه کننده توسط همکار فوق تخصص گوارش انتخاب شدند. شرایط اولیه انتخاب بیماران وجود دندان در دهان و وجود پاکت پریودنتال و عدم استفاده از آنتی بیوتیک یک هفته قبل از شروع معاینات بود. زمان نمونه‌گیری به مدت ۲۰ روز کاری صورت گرفت و برای بیماران پرسشنامه‌ای تهیه و تکمیل گردید و جهت انجام معاینات از کلیه بیماران رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. معاینه

هلیکوباکترپیلوری (Hp) نوعی باکتری گرم منفی است که به عنوان یکی از عوامل اتیلوژنیک سوء هاضمه غیرزخمی و زخم معده و عامل احتمالی آدنوکارسینوم و لنفوم معده مورد توجه می‌باشد. حتی عنوان شده است که درصد احتمال وجود این باکتری در افراد مبتلا به سوء هاضمه غیرزخمی ۱۵ الی ۲۵ درصد می‌باشد<sup>(۱)</sup>. در درمانهایی که برای افراد مبتلا به سوء هاضمه غیرزخمی انجام می‌گیرد، معمولاً برای مدتی بهبودی حاصل می‌شود، اما مشکلی که وجود دارد عودهای مکرری است که بیماران از آن رنج می‌برند. این طور بیان شده است که سوء هاضمه غیرزخمی (dyspepsia) جزء اولین مراحل بروز مشکلاتی مانند زخم معده و دوازدهه می‌باشد که ممکن است تحت تاثیر این باکتری باشد. در عود این ضایعات مصرف داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی، استرس، مقاومت دارویی و یا عدم استفاده درست و منظم دارو توسط بیمار ذکر شده است<sup>(۲)</sup>. بعلاوه وجود یک مخزن عفونت می‌تواند در عود ضایعات در این بیماران موثر باشد. از سوی دیگر با توجه به این که این باکتری میکروآتروفیلیک است و شرایط ویژه‌ای را برای کلونیزاسیون لازم دارد بنابراین حفره دهان، پلاک دندان‌ها، زیر لثه‌ای و پاکت‌های پریودنتالی می‌تواند به عنوان یکی از عوامل ذخیره این باکتری مطرح باشد<sup>(۱)</sup>. اولین بار در سال ۱۹۸۹، Krajden و همکارانش وجود Hp را در پلاک دندان‌ها گزارش کردند<sup>(۳)</sup>. Shames نیز بررسی خود را جهت تعیین این باکتری در مخاط معده و پلاک دندان‌ها بیماران انجام داد و نتوانست این باکتری را بطور همزمان از این دو ناحیه جدا نماید<sup>(۴)</sup>. Harlo طی بررسی این باکتری در پلاک و مخاط معده

DNA را به روش مشکل و پرهزینه و دقیق تری یعنی روش فنل - کلورفرم انجام دهیم سپس استخراج DNA نمونه های مخاط معده و پاکت پریدنتال و پلاک میکروبی به روش فوق آغاز گردید. پس از پایان استخراج، عمل PCR به واسطه پرایمرهای HP صورت گرفت و بعد از الکتروفورز کردن تمامی نمونه ها همان نتایج اولیه بدست آمد. بدین جهت باز برای کنترل کیفیت آزمایشگاهی و انجام مراحل استخراج و PCR تصمیم گرفته شد که یک بررسی دیگر نیز صورت گیرد. لذا با همکاری یکی از تکنسین های شرکت سیناژن به بخش آندوسکوپی بیمارستان شریعتی تهران مراجعه کرده و ۱۰ نمونه بیوپسی مخاط معده که همگی اوره آز مثبت بودند انتخاب گردید و بعد از انتقال آنها به آزمایشگاه و استخراج DNA و انجام PCR مشخص گردید که تمام نمونه های گرفته شده از بیمارستان شریعتی مثبت بودند، لذا این اطمینان حاصل گردید که هیچ نقصی در انجام آزمایشات و استخراج DNA وجود نداشت.

#### یافته‌ها:

افراد مورد مطالعه شامل ۹۶ بیمار مبتلا به سوء هاضمه غیرزخمی شامل ۴۵ مرد (۵۳/۱۲٪) و ۵۱ زن (۴۶/۸۷٪) با دامنه سنی ۶۰-۱۷ سال و میانگین سنی ۳۷/۲۸ سال بود. متوسط سنی مردان ۳۶/۴۸ سال و متوسط سنی زنان ۳۸/۳۷ سال بود. بعد از اتمام PCR از ۲۸۸ نمونه از ۹۶ بیمار، HP در هیچ یک از نمونه های بیماران بدست نیامد و همگی منفی گزارش شد.

#### بحث:

در این پژوهش، وجود هلیکوباکتریلوری در نمونه های بیوپسی شده از مخاط معده و پلاک دندانی و پاکت پریدنتال توسط تکنیک PCR مورد بررسی و بدین منظور ۹۶ بیمار مبتلا به سوء هاضمه غیرزخمی مورد مطالعه قرار گرفت. همانطوری که ذکر شد هلیکوباکتریلوری یک باکتری میکروآئروفیلیک و غیرهوازی است و با توجه به نظریه های مختلف به این نتیجه رسیدند که این باکتری خود یک عامل مهم برای بروز ناراحتی های گوارشی بخصوص زخم معده و دوازدهه می باشد<sup>(۴)</sup>. مقاله هایی در این زمینه وجود دارد که با استفاده از روش های مختلف به وجود این باکتری در پلاک های دندانی و مخاط معده پی بردند و آن را زمینه ای برای ناراحتی های گوارشی و عود مجدد اختلالات گوارشی بخصوص زخم معده

بیمار توسط سوند، آئینه و پروپ پریدنتال استریل انجام شد و نمونه گیری پلاک های زیرلثه ای و پاکت پریدنتال توسط یک نفر صورت گرفت و با استفاده از پروپ پریدنتال عمیق ترین عمق پاکت را از سه ناحیه فک بالا و سه ناحیه فک پایین پیدا کرده و سپس به کمک کورت، پلاکهای زیرلثه ای را جدا کرده و توسط کن های کاغذی استریل شده توسط اشعه گاما، نمونه ها تهیه گردید. نمونه های مخاط معده نیز توسط یک فوق تخصص گوارش به روش آندوسکوپی جمع آوری شد. سپس تمام نمونه ها در یک محیط ترنسپورت (Transport) که حاوی مواد بافری مخصوص بود جمع آوری گردید. در طی مراحل انجام نمونه گیری در بیمارستان کلیه نمونه ها در فریزر بیمارستان نگهداری می شد و بعد از اتمام نمونه گیری در هر روز نمونه های جمع آوری شده توسط ژل های Ice Pack محافظت می شدند و سپس به سردخانه سازمان انتقال خون منتقل و در دمای منهای ۳۵ درجه سانتی گراد قرار می گرفتند. پس از اتمام زمان جمع آوری تمامی نمونه ها، کلیه نمونه های بدست آمده توسط هواپیما به شرکت سیناژن به منظور انجام آزمایشات بیوتکنولوژی به روش PCR منتقل شدند. تمامی نمونه ها در شرکت سیناژن در فریزر نگهداری شدند و سپس توسط یک متخصص بیوتکنولوژی به کمک تکنیک PCR، DNA از نمونه های مربوطه استخراج گردید. روش استخراج DNA از نمونه های مخاط معده به روش جوشاندن (Boiling) و بر روی نمونه های پلاک میکروبی و پاکت پریدنتال به روش DXP مربوط به شرکت سیناژن بود (یکی از روش های استخراج و آزادسازی DNA روش جوشاندن است که در نمونه های مخاط معده بعلت متصل بودن DNA به چربیها از این روش استفاده گردید ولی DNA نمونه های پلاک و پاکت پریدنتال را نمی توان با این روش جدا نمود. بنابراین از کیت های مخصوص شرکت سیناژن (DXP-Kit) استفاده شد. بعد از پایان یافتن استخراج DNA در نمونه های مخاط معده و پلاک میکروبی و پاکت پریدنتال، مراحل PCR به کمک پرایمرهای الگو صورت گرفت. بعد از تعیین PCR منفی در نمونه ها این شک بوجود آمد که شاید انجام آزمایشات بطور دقیق صورت نگرفته و اشتباهاتی در استخراج نمونه ها انجام گرفته است لذا بر آن شدیم که دوباره نمونه ها را مورد بررسی قرار داده و استخراج

آندوسکوپی صورت گرفت. Cheng نیز توانست انواع مشابه HP را از مخاط معده و پلاک دندانی جدا نماید<sup>(۹)</sup>. Malaty نیز عنوان نمود که پرسنل دندانپزشکی و دندانپزشکان در معرض خطر عفونت HP از راه دهان نیستند ولی چون بررسی های انجام شده بصورت سرولوژیک بود گویای وجود باکتری در پلاک دندانی و پاکت پرپودنتال نمی باشد<sup>(۱۰)</sup>. Yamada بیان نمود که PCR یکی از مهمترین سیستمهای حساسی است که برای تشخیص HP در حفره دهان بکار می رود<sup>(۱۱)</sup>. لذا در این تحقیق نیز جهت بررسی HP از این روش استفاده گردید. البته روش های تشخیصی مختلفی در مورد عفونت HP در مخاط معده وجود دارد ولی کاربرد این روشها در پلاک دندانی و پاکت های پرپودنتال محدود است؛ تست اوره آز در دهان بر خلاف معده ارزش تشخیصی ندارد زیرا در این دو محل میکروب های اوره آز مثبت وجود دارد<sup>(۱۱)</sup>.

#### نتیجه گیری:

در واقع می توان نتیجه گرفت که پلاک دندانی و پاکت پرپودنتال محیط مناسب برای تجمع HP نمی باشد و نمی تواند بعنوان عاملی برای بروز و یا عود ناراحتی های گوارشی در بیماران مبتلا به سوءهاضمه غیرزخمی در نظر گرفته شود.

در نظر گرفته اند<sup>(۵،۶)</sup>. با این حال مطالعات ضد و نقیضی در این مورد وجود دارد. از آنجاییکه مخاط معده به عنوان زیستگاه و محل اصلی ذخیره این باکتری می باشد از این جهت این امکان وجود دارد که به درون حفره دهان راه یابد و محل ذخیره دیگری برای این میکروارگانیسم تلقی گردد و با توجه به اینکه جهت درمان اختلالات گوارشی ناشی از HP از آنتی بیوتیک های متعدد و وسیع الطیف استفاده می گردد و بیشترین اثرات این داروهای بر روی HP مخاط معده می باشد و باعث حذف این باکتری می گردد ولی اشاره شده است که در صورت وجود HP در حفره دهان اثرات این داروها کمتر می باشد<sup>(۷)</sup>. لذا با توجه به عودهای مکرر اختلالات گوارشی در بیماران می توان اینگونه بیان نمود که شاید حفره دهان نیز محل ذخیره این باکتری باشد و احتمالاً "باعث عود اختلالات گوارشی گردد. به نظر Nguyen و Hardo، هلیکوباکتریپیلوری در تمام حفرات دهان بطور یکنواخت پراکنده نمی باشد و ممکن است در برخی نواحی یافت شود<sup>(۵،۸)</sup>. بنابراین سعی شد در این تحقیق نمونه های جمع آوری شده برای PCR اکثر نواحی دهان را در بر گیرد و چون احتمال انتقال این میکروارگانیسم از معده به دهان توسط آندوسکوپی وجود داشت نمونه گیری از پلاک میکروبی و پاکت پرپودنتال قبل از

#### منابع:

- 1- Kawasaki ES. Sample preparation from blood, cells, and other fluids in PCR protocols: A Guide to Methods and Applications, 1<sup>st</sup> ed 1990, 146-52.
- 2- Abraham PH. A role in ulcer recurrence Ind. J Gastroenteral 9; 1990; 9: 265-6.
- 3- Kradjden S, Fuksa M, Anderson J, Kempton J, et al. Examination of human stomach biopsies saliva and Dental plaque for campylobacter pylori J Clin Microbiol, No: 6, 27: 1989; 1397-98.
- 4- Shames B. Evidence for the occurrence of the same strain of campylobacter pylori in the stomach and dental plaque J Clin Microbiol, 1989; 27: 2849-50.
- 5- Harlo S. Identification by PCR of HP in subgingival plaque of adult periodontitis patient. J Med microbiol, 1999; 48: 317-22.
- 6- Asikainen S. Absence of Helicobacter pylori in subgingival samples determined by PCR. Oral Microbiol Immunol. 1994; 9: 318-20.
- 7- Mapstone NP. Identification of HP DNA in the Mouth and stomach at patients with gastritis using PCR. J Clin Pathol, 1993; 46; 540-3.
- 8- Harlo PG. Helicobacter pylori infection and dental care. Gut, Vol: 37; 1995, P: 44-6.
- 9- Cheng LH. Helicobacter pylori in dental plaque and gastric mucosa. Oral Surg, Oral Med and Pathol, 1996; 81: 421-3.
- 10- Malaty HM. Helicobacter pylori infection in dental workers. J Gastroenteral, 1992; 87(12): 31.
- 11- Yamada T. Text book gastroenterology Chapter 61-64-65. J B Lippincott 1995.