بررسی وجود هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی مبتلایان به مشکلات گوارشی

دکتر شهین جعفری*- دکتر ناصر ابراهیمی دریانی**- دکتر سیروس زینلی***- دکتر مینا مطلب نژاد****

*دانشیار گروه آموزشی بیماریهای دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

**دانشیار بخش گوارش بیمارستان امام خمینی «ره» دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران

***استادیار بخش بیوتکنولوژی انستیتوپاستور

****استادیار گروه آموزشی بیماریهای دهان دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بابل

Title: A Study of helicobacter pylori presence in patients with gastrointestinal disorder
Authors: Jafari Sh. Associate Professor*, Ebrahimi-e- Daryani N. Associate Professor**, Zeinali S. Assistant Professor***, Motalleb Nejad M. Assistant Professor****
Address: * Dept. of Oral Medicine. Faculty of Dentistry. Tehran University of Medical Sciences
** Dept. of Gastroenterology. Imam Khomeini Hospital. Tehran University of Medical Sciences
*** Dept. of Biotechnology. Institute Pastor
**** Dept. of Oral Medicine. Faculty of Dentistry. Babol University of Medical Sciences
Abstract: Helicobacter pylori infection causes gastric and duodenal ulcer. However recurrence of infection after eradication would suggest the existence of other reinfecting sources in the gastrointestinal tract (GI). The aim of this study was to assess the existence of helicobacter pylori in dental plaques of patients harboring helicobacter pylori in their GI tract. Antral biopsies were taken from 40 patients with GI problems and cultured. Samples were also taken from dental plaques of patients with positive helicobacter pylori culture under microaerophilic conditions and evaluated by polymerase chain reaction (PCR) reamplification. The mean age of patients was 40 years; 24 (60%) male and 16 (40%) female. The results obtained from dental plaque cultures, which analysed by PCR were all negative, however 7 (17.5%) cases were found positive by PCR reamplification. The results showed that helicobacter pylori could exist in dental plaque and PCR reamplification could be used for its detection as a more sensitive technique. More research should be conducted to examine any relation between the existence of helicobacter pylori in dental plaques and recurrent GI disorders.

Key words: Helicobater pylori- Dental plaque- PCR

Journal of Dentistry. Tehran University of Medical Sciences (Vol. 14, No: 2, 2001)

چکیده :

هلیکوباکترپیلوری عامل ایجاد زخم معده و اثنی‌عشر می‌باشد و به دلیل وجود عودهای مکرری که به دنبال ریشه‌کنی این باکتری از معده گزارش شده است، احتمال وجود منبع آلوده‌کننده‌ای در دستگاه گوارش مطرح می‌گردد. هدف از این مطالعه، بررسی وجود هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی بیمارانی است که معده آنها آلوده به این باکتری بوده است. با در نظر گرفتن این موضوع از پلاک دندانی ۴۰ بیمار با آلودگی معده به هلیکوباکترپیلوری نمونه‌گیری انجام شد که نمونه‌ها توسط کشت و Polymerase Chain Reaction (PCR) بررسی شدند. نمونه‌گیری از پلاک دندانی زیر لثه‌ای به عمل آمد.

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-05-07]

کشت در محیط بروسلا آگار انجام و PCR با روش PCR Reamplification صورت گرفت. سن متوسط بیماران ۴۰ سال شامل ۲۴ نفر مرد (۶۰٪) و ۱۶ نفر زن (۴۰٪) بود. نتیجه کشت و PCR مرحله اول منفی و نتیجه PCR Reamplification در ۷ مورد (۱۷/۵٪) مثبت بود. هلیکوباکترپیلوری را می‌توان در پلاک دندانی یافت و روش PCR Reamplification می‌تواند به عنوان روش حساس‌تری برای تشخیص آن در پلاک دندانی بکار رود. مطالعات بیشتر برای اثبات ارتباط بین وجود هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی و عود بیماریهای گوارشی لازم می‌باشد.

کلید واژه‌ها: هلیکوباکتر پیلوری- پلاک دندانی- PCR

مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران (دوره ۱۴، شماره ۲، سال ۱۳۸۰)

مقدمه :

اولین بار Marshall و Robin در سال ۱۹۸۲ هلیکوباکترپیلوری را در معده افراد مبتلا به زخم یافتند و این باکتری را به عنوان عامل زخم پپتیک معرفی کردند(۱). این باکتری در ۹۵ تا ۱۰۰٪ افراد دارای زخم اثنی‌عشر و ۷۵ تا ۸۵٪ افراد دارای زخم معده یافت شده است؛ لذا با توجه به اتیولوژی میکروبی زخمهای پپتیک، درمان این موارد توسط آنتی‌بیوتیک‌ها صورت می‌گیرد ولی در مواردی ممکن است پس از یک درمان موفق، عود مشاهده شود (۲)؛ لذا احتمال دارد یک منبع آلوده‌کننده مقاوم به درمان سیستمیک در دستگاه گوارش وجود داشته باشد که مجدداً باعث آلودگی معده بیمار گردد. چون این باکتری میکروآئروفیل است لذا پلاک دندانی زیرلثه‌ای محیط مناسبی برای مخفی‌ماندن این باکتری به نظر می‌رسد.

در صورتی که هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی یافت شود، چند نکته اپیدمیولوژیک مطرح می‌گردد که باید مورد توجه قرار گیرد:

- احتمال انتقال Fecal-Oral به دلیل وجود این باکتری در مدفوع (۳)
- احتمال آلودگی دندانپزشکان با این ارگانیسم
- احتمال انتقال این باکتری از فرد ناقل به سالم بخصوص بین افراد یک خانواده

روشهای مختلفی برای بررسی وجود هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی بکار رفته و نتایج مختلفی ارائه گردیده است. Krajde و همکاران، Shames، Majmadar و همکاران و Hardo این ارگانیسم را با روشهایی از جمله کشت میکروبی و PCR در پلاک دندانی یافته‌اند (۷،۶،۵،۴) ولی Asikainen و Cheng معتقدند که پلاک دندانی محیط مناسبی برای جایگزینی این باکتری نمی‌باشد (۹،۸)؛ لذا با توجه به تناقضات موجود و مسائل مطرح‌شده فوق، این بررسی با هدف یافتن هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی زیر لثه‌ای توسط کشت و PCR صورت گرفت.

روش بررسی :

در این مطالعه توصیفی، ۴۵ بیمار که با مشکلات گوارشی به کلینیک تخصصی خصوصی گوارش مراجعه کرده بودند، بطور تصادفی انتخاب شدند. شرایط انتخاب بیمار داشتن دندان و عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک طی یک‌هفته گذشته (در زمان مراجعه بیمار) بود. برای تمام بیماران پرسشنامه‌ای مشتمل بر مشخصات بیمار، تاریخچه بیماری و علائم و سوابق درمانی بیماری گوارشی تکمیل گردید؛ سپس سه ناحیه در فک بالا و سه ناحیه در فک پایین (یک ناحیه قدام، یک ناحیه خلف سمت چپ و یک ناحیه خلف سمت راست) توسط گاز استریل از پلاک فوق

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-05-07]

لثه‌ای پاک شد و با کورت پریودنتال استریل از عمق شیار لثه‌ای یا پاکت پریودنتال، پلاک دندانی جمع‌آوری گردید. در مجموع از شش ناحیه فوق یک نمونه در محیط ترانسپورت برای انجام کشت و یک نمونه در لوله‌های ۱/۵ میلی‌لیتری حاوی سرم فیزیولوژی برای انجام PCR جمع‌آوری و به آزمایشگاه برده شد. کشت در محیط بروسلا آگار + ۱٪ نشاسته + ۱۰-۷٪ خون گوسفندی+ آنتی‌بیوتیک‌ها (ونکومایسین+ پلی‌میکسین و تری متوپریم) و در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۹۵٪ و فشار Co_2 ۵٪ در انکوباتور Co_2 قرار داده شد. پس از گذشت ۳ تا ۷ روز در نمونه‌هایی که کلنی‌های ته‌سنجاقی ۰/۵ تا ۲ میلی‌متری شبیه قطرات شبنم تشکیل شده بود، تست‌های بیوشیمیایی از جمله تست اوره آز، نیترات، اکسیداز و کاتالاز انجام شد و مقاومت نسبت به نالیدیکسیک اسید و حساسیت به سفالوتین نیز بررسی گردید. دیدن کلنی‌های فوق و مثبت‌شدن هر یک از تست‌های مذکور و مقاومت باکتری به نالیدیکسیک اسید و حساسیت نسبت به سفالوتین به عنوان نتیجه مثبت تلقی می‌گردد. در صورتی که کشت نمونه بیوپسی‌شده از معده هر یک از بیماران منفی گزارش می‌شد، این فرد از مطالعه حذف می‌گردید (۱)؛ در نهایت پلاک دندانی ۴۰ بیمار که کشت معده آنها مثبت بود، مورد بررسی قرار گرفت (۵ بیمار دیگر، به علت منفی‌بودن کشت معده از مطالعه حذف شدند).

DNA نمونه‌های پلاک جمع‌آوری‌شده، برای PCR نیز پس از شستشو با آب مقطر توسط روش Phenol DNA Extraction استخراج گردید (۱۰) و در نهایت DNA تخلیص‌شده در ۵۰ میکرولیتر بافر TE حل شد. اساس روش PCR بکار رفته و فرمول توالی پرایمرها و درجه Annealing و اندازه محلول PCR بر اساس مقاله Valentine می‌باشد (۱۱)؛ به منظور انجام PCR یک‌جفت پرایمر بر اساس فرمول زیر به اندازه ۲۰ (bp) ساخته شد:

Heli 1= (5, CAT AGA GGG ATTGG-3,)

Heli 2- (5, TAA CAA ACC GAT AAT GGC GC-3,)

در هر واکنش ۰/۱۴۸ میلی‌گرم از هر یک از پرایمرها بکار رفت.

برنامه استفاده شده عبارت است از ۹۳ Denaturing به مدت دو دقیقه، ۵۰ Annealing به مدت یک دقیقه و ۷۲ Extension به مدت یک دقیقه به اندازه ۳۵ سیکل.

روش دوم PCR انجام شده روش PCR Reamplification بود که مشخصات آن به شرح زیر می‌باشد:

ابتدا با برنامه فوق‌الذکر ۲۰ سیکل PCR انجام شد؛ سپس از محلول PCR چهار رقت $\frac{۱}{۱}$ و $\frac{۱}{۱۰}$ و $\frac{۱}{۵۰}$ و $\frac{۱}{۱۰۰}$ تهیه گردید و مجدداً ۳۵ سیکل در تیوپ‌های جدید PCR انجام گردید. حساسیت روش اخیر در حد کمتری از ۱۰ رشته DNA در هر نمونه می‌باشد (۱۲).

یافته‌ها :

پلاک دندانی ۴۰ بیمار که کشت معده آنها از نظر هلیکوباکترپیلوری مثبت بود با روش کشت و PCR بررسی شد. ۲۴ بیمار مرد (۶۰٪) و ۱۶ بیمار زن (۴۰٪) بودند. دامنه سنی آنها بین ۲۳ تا ۵۸ سال با متوسط ۴۰ سال بود.

۴۷/۵٪ آنان سابقه آندوسکوپی قبلی و ۵۷/۵٪ آنان بیماری گوارشی به همراه زخم داشتند و بقیه مبتلا به Functional Dyspepsia بودند.

نتیجه کشت و PCR (روش اول) تمام نمونه‌های پلاک منفی بود. علل منفی‌شدن نمونه‌ها در روش PCR از نظر وجود ممانعت‌کننده PCR با استفاده از ژن گلوبین انسانی و کنترل داخلی بررسی شد که نتایج نمایانگر عدم وجود

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-05-07]

ممانعت‌کننده بود و چون دقت این تست در حد ۱۰۰ باکتری می‌باشد، بنابراین از روش حساس‌تری به نام PCR Reamplification استفاده شد که با روش اخیر ۷ مورد (۱۷/۵٪) مثبت بدست آمد.

به دلیل تعداد کم نمونه‌های مثبت بررسی ارتباط وجود هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی با سن و جنس بیمار و نوع بیماری گوارشی و سابقه آندوسکوپی میسر نبود.

بحث :

در مطالعه حاضر ۴۰ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند که پلاکهای دندانی زیر لثه آنان جهت انجام کشت و PCR بررسی شد. چون به عقیده Nguyen هلیکوباکتر در تمام دهان بطور یکنواخت پراکنده نمی‌باشد، لذا نمونه‌های پلاک دندانی از نواحی مختلف دهان جمع آوری شد (۱۳).

روشهای تشخیصی مختلفی در مورد عفونت هلیکو باکترپیلوری در معده وجود دارد ولی کاربرد این روشها در پلاک دندانی محدود است. تست اوره در دهان بر خلاف معده ارزش تشخیصی ندارد؛ زیرا در پلاک دندانی میکروب‌های دیگر اوره آز مثبت نیز وجود دارد. Desai در سال ۱۹۹۱، ۹۸٪ پلاک‌های دندانی را اوره آز مثبت بدست آورد و نتیجه‌گیری کرد که در این تعداد پلاک دندانی هلیکوباکتر وجود دارد (۱۴) که این نتیجه گیری قابل قبول نمی‌باشد. در بررسی حاضر تست اوره آز پلاک دندانی انجام نشد.

کشت هلیکوباکترپیلوری نیز در پلاک دندانی مناسب نمی‌باشد. به عقیده Bhatia شواهدی وجود دارد که لاکتوباسیل اسیدوفیلوس، با آزادسازی موادی از رشد هلیکوباکتر ممانعت می‌کند (۱۵)؛ همچنین تنوع زیاد باکتری‌های پلاک دندانی، مانع رشد هلیکوباکتر می‌شوند؛ بنابراین به دست نیاوردن کشت مثبت در پلاک دندانی هیچ‌یک از ۴۰ بیمار مورد بررسی در این مطالعه قابل توجیه است؛ حتی در مواردی که PCR مثبت شده بود.

در مطالعه Hardo (۱۹۹۵) کشت تمام نمونه‌ها منفی بود (۷)؛ همچنین Krajden (۱۹۸۹) یک مورد از ۷۱ مورد مثبت و Cheng (۱۹۹۶) فقط یک مورد از ۱۲۲ مورد مثبت بدست آورد (۹،۴). Majmudar در هند ادعا کرد که از کشت پلاک‌های دندانی مربوط به ۴۰ فرد سالم توانسته است هلیکوباکتر را جدا نماید (۶). Aggarwal روشهای تشخیصی Majmudar را برای هلیکوباکتر کافی و اختصاصی ندانست (۱۶). Mapstone و همکاران نیز پلاک دندانی را منبع مهمی از هلیکوباکترپیلوری به حساب آورده‌اند (۱۷).

PCR روشی بسیار دقیق برای تشخیص هلیکوباکتر بخصوص در پلاک دندانی است؛ زیرا قادر است تعداد بسیار کم باکتری را نیز در جمعیت و تنوع زیاد باکتری‌های دیگر و مواد مختلف متشکله پلاک مشخص نماید؛ ولی تکنیک‌ها و پرایمرهای مختلفی که در این روش بکار رفته، نتایج مختلفی را به همراه داشته است. Banatvala (۱۹۹۳) PCR خود را بر مبنای تکثیر ژن اوره آز انجام داد (۱۸) ولی ژن مذکور غیر از هلیکوباکترپیلوری در نوعی کمپیلوباکتر نیز وجود دارد؛ بنابراین ویژگی این تست پایین است و موارد مثبت کاذب خواهد داشت، (همان‌طور که در بررسی Banatvala مشاهده شد). دقیق‌ترین روش PCR که تاکنون در مورد پلاک دندانی بکار رفته، تکنیک RT-PCR است (۲۰،۱۹) که حساسیت آن حدود یک یا دو باکتری در نمونه می‌باشد و Nguyen (۱۹۹۳) با استفاده از این روش ۳۹٪ پاسخ مثبت بدست آورد (۱۳).

Hardo (۱۹۹۵) و Mapstone نیز بر اساس تکثیر ژن 16SRNA ریبوزومی به‌ترتیب ۳٪ و ۳۶٪ پاسخ مثبت بدست آوردند (۱۷،۷).

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-05-07]

در بررسی حاضر دو روش PCR بکار رفته است. روش اول بر اساس مقاله Valentin (۱۹۹۱) بود (۱۱)؛ وی این روش را بسیار دقیق و با حساسیت ۱۰۰ باکتری در نمونه معرفی کرد. با این روش هیچ یک از نمونه‌های پلاک دندانی مثبت نشد. روش دیگر PCR Reamplification می‌باشد که مراحل آن شرح داده شد. اختلاف نتایج بدست آمده در مورد وجود هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی با روش PCR به علت اختلاف در حساسیت روشهای انجام شده یا حساسیت پرایمرها است و این مطلب گویای این نکته است که تعداد باکتری در پلاک دندانی بسیار کم می‌باشد و روشهایی که حساسیت کمتری دارند، قادر به تشخیص این تعداد باکتری در نمونه نیستند.

بر اساس اطلاعات بدست آمده می‌توان نتیجه گرفت که هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی وجود دارد؛ ولی تعداد آن در این محل به اندازه‌ای کم است که باید روشهای حساس را در مورد تشخیص آن بکار برد؛ بین روشهای بکار رفته در این بررسی PCR Reamplification که دقیق‌ترین آنها می‌باشد، بهترین پاسخ را داد.

چون دندانپزشکان و بهداشتکاران دهان و دندان افرادی هستند که بطور مستقیم با پلاک دندانی بیماران در تماس هستند، باید از احتمال آلوده شدن خود یا آلوده کردن دیگر افراد بخوبی آگاه باشند. مقاوم بودن هلیکوباکترپیلوری به آنتی‌بیوتیک‌ها (زمانی که در پلاک مستقر می‌باشد) نیز نیاز به بررسی پلاک دندانی پس از تجویز آنتی‌بیوتیک دارد؛ همچنین انتقال این باکتری از راه دهان به افراد دیگر و اثبات ارتباط بین وجود هلیکوباکترپیلوری در پلاک دندانی و عود بیماریهای گوارشی نیاز به بررسیهای بیشتری دارد.

منابع:

1- Alcoma IE. Fundamental of Microbiology. (Chap 8). 5th ed. Benjamin Comings; 1997.

2- Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DI, et al. Hellicobacter Infections. Harrison's Principles of Internal Medicine. Vol. 1. 14th ed. New York: Mc Graw Hill; 1998.

3- Brown LM. Helicobacter Pylori: Epidemilogy and Routes. Transimission Epidemiol Rev 2000; 22(2), 283-97.

4- Krajden Faska M. Kempston AJ, Boccia AJ, Babidac PC. Examination of human stomach biopsies, saliva and dental plaque for campylobacter pylori J Clin Microbiol 1989; 27(6): 1397-98.

5- Shames B. Evidence for the occurrence of the same strain of campylobacter pylori in the stomach and dental plaque. J Clin Microbiol 1989; 27(12): 2849-50.

6- Majmudar P, Shah SM, Dhunjibhoy KR, Desai HG. Solation of helicobacter pylori from dental plaques in healthy volunteers. Indian J Gastroenterol 1990 Oct; 9(4): 271-72.

7- Hardo PG, Tugnait A, Hassan F, Lynch DA, West AP, Mapstone NP, Quirke P, Chalmers DM, Kowolik MJ, Axon AT. Helicobacter pylori infection and dental care. Gut 1995 Jul; 37(1): 44-46.

8- Asikainen S. Absence of helicobacter pylori in sub gingival samples determined by polymerase chain reaction. Oral Microbiol Immunol 1994; (5): 318-20.

9- Cheng LH. Helicobacter pylori dental plaque and gastric mucosa. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1996; 81: 421-23.

10- Manitis Molecular Cloning. A Laboratory. Manual 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press 1689; E3-E11, 9.8-6.13

11- Valentin JL, Arthur RP, Mobley HL, Dick JD. Detection of helicobacter pylori.by using the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1991; 29(4): 689-95.

12- Roux KH. Optimization and troubleshooting in PCR methods. J Appl Bacteriol 1995; 4(5): 185-94.

13- Nguyen AM, Engstrand L, Genta RM, Graham DY, el Zaatari-FA. Dectection of helicobacter pylori in dental

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-05-07]

plaque by reveres transcription polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1993; 31(4): 783-87.

14- Desai HG, Gill HH, Shankaran K, Mehta PR, Prabhu SR. Dental plaque: a permanent reservoir of Helicobacter pylori? Scand J Gastroenterol 1991 Nov; 26(11): 1205-208.

15- Bhatia SJ, Rochar N, Abraham P, Nair NG. Lactobacillus acidophilus inhibits: campylobacter pylori in-vitro. J Clin Microbiol 1989; 27: 2328-30.

16- Aggarwal R. Are they H pylori in dental plaques? Indian J Gastroenterol 1991 Jan; 10(1): 33-34.

17- Mapstone NP, Lynch DA, Lewis FA, Axon AT, Tompkins DS, Dixon MF, Quirke P. Identification of Helicobacter pylori DNA in the mouths and stomachs of patients with gastritis using PCR. J Clin Pathol 1993 Jun; 46(6): 540-43.

18- Banatvala N, Lopez CR, Dwen R, Abdi Y, Davies G. Helicobacter pylori in dental plaque? Lancet 1993; 341 (2): 380.

19- Clayton CL, Kleanthous H, Coates PJ, Morgan DD. Sensitive detection of helicobacter pylori by using polymerase chain reaction J Clin Microbiol 1992; 30(1): 192-200.

20- Engstrand L, Nguyen AM. Graham DY. Reverse transcription and polymerase chain reaction amplification of RNA for detection of helicobacter species .J Clin Microbiol 1992; 30(4): 2295-301.

* * * * *

[Downloaded from jdm.tums.ac.ir on 2026-05-07]