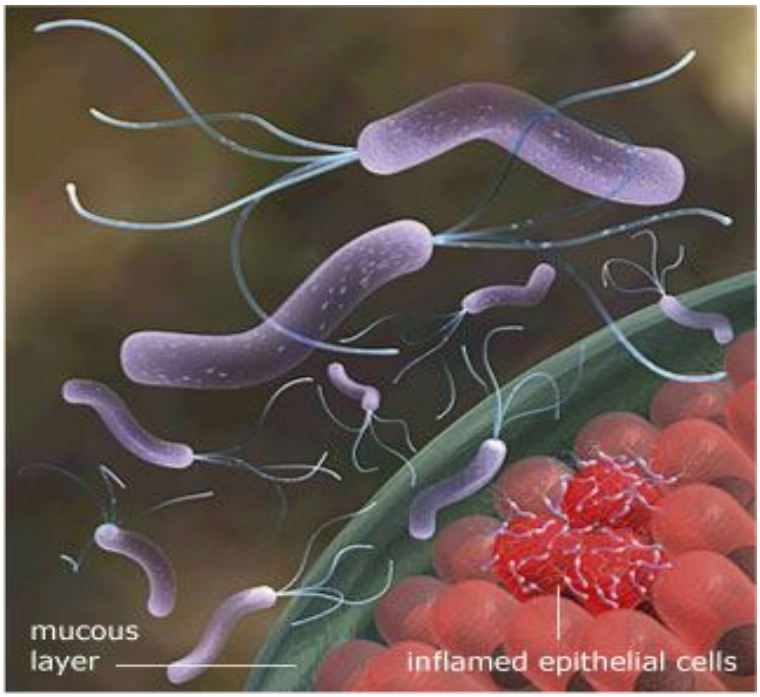
هلیکوباکتر پیلوری

Helicobacter Pylori

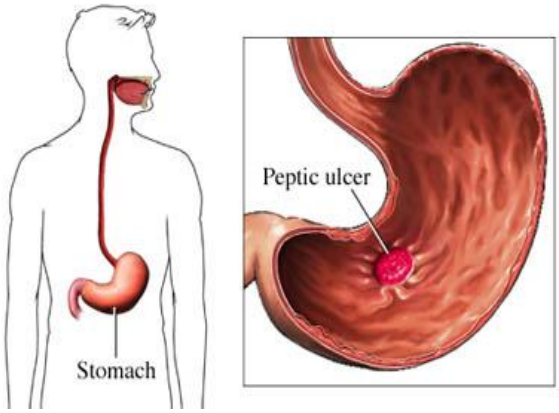


کمیته علمی- پژوهشی آزمایشگاه مرکزی فردیس

"خرداد ماه ۱۳۹۱"

مقدمه:

هلیکوباکتر پیلوری مهمترین عامل پیدایش اولسر پپتیک (زخم معده) و گاستریت است. حدود۵۰- ۲۵درصد افراد درکشورهای توسعه یافته و ۹۰-۷۰ درصد افراد در کشورهای در حال توسعه آلوده به این باکتری هستند. در مناطق در حال توسعه ممکن است، ٪۸۰ جمعیت تا سن ۲۰ سالگی به این عفونت آلوده شوند. هر چه سن بالاتر رود احتمال گرفتار شدن فرد هم بیشتر می‌شود. حدود نیمی از جمعیت جهان با هلیکوباکتر پیلوری آلوده هستند در نتیجه، هلیکوباکتر پیلوری شایع‌ترین عفونت باکتریایی انسان شناخته می شود. وضع بد اجتماعی و اقتصادی از عواملی هستند که احتمال بروز این عفونت را در فرد بالا می‌برد. از عوامل دخیل دیگر تراکم جمعیت، زندگی در شرایط غیر بهداشتی، غذا یا آب آلوده و تماس با محتویات معده افراد آلوده را می‌توان نام برد. انتقال این بیماری از راه فرد به فرد، و عمدتاً از راه‌های دهانی- دهانی یا دهانی- مدفوعی انجام می‌شود.



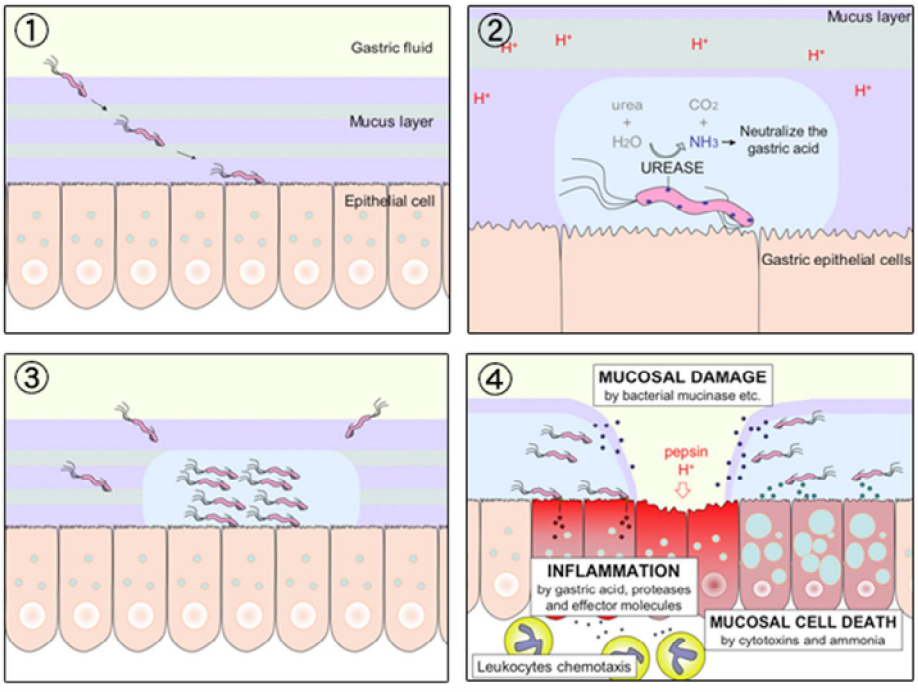
هلیکو باکتر پیلوری *(Helicobacter Pylori)*:

باسیل گرم منفی، میکروآئروفیل، مارپیچی شکل، که دارای ٤ تا ٦ تاژک لوفوتریش است. طول این باکتری ۳ میکرومتر و قطر آن حدود ۰/۵ میکرومتر است. هلیکوباکتر دارای آنزیم اکسیداز، کاتالاز و اوره آز است. این باکتری به وسیله آنزیم هیدروژناز با تجزیه مولکول هیدروژن تولید انرژی می کند. وجود پمپ پروتون *(H+ ATPase / +k)* در سطح این باکتری، باعث می شود گرادیان پروتون (یون مثبت) رابه نسبت یک میلیونیوم در دو طرف دیواره نگه‌داشته و هر یون مثبتی را که به درون باکتری راه پیدا می‌کند به بیرون انتقال بدهد. به عبارتی در محیط معده به خاطر وجود اسید معده یون پروتون به میزان زیادی وجود دارد که اگر وارد باکتری بشود باعث نابودیش می‌شود، برای بر طرف کردن این مشکل این پمپ در سطح باکتری به وجود آمده، و یونهای مثبتی را که وارد باکتری بشوند به سرعت از باکتری خارج می‌کند.

بیماریزایی:

هلیکو باکتر پیلوری با استقرار در بخش آنتروم (بخش انتهایی معده با ماهیچه های ضخیم و قوی) سبب عفونت طولانی مدت در این ناحیه می شود. در واقع تنها باکتری که می تواند در محیط معده، در مقابل حضور شیره معده زندگی و رشد نماید هلیکوباکترپیلوری می باشد. این باکتری با استفاده از غذا یا آب آلوده از راه دهان وارد معده شده و توسط تاژک ها، خود را در میان سلولهای لایه مخاطی معده جای میدهد و یا در صورت بروز زخم معده بر روی سلولهای اپیتلیوم معده استقرار یافته و تاژکهای خود را در آن ناحیه فرو می برد. این میکروب به مقدار کمی اکسیژن برای ادامه حیات نیاز دارد و شکل مارپیچی آن به این باکتری اجازه می‌دهد در میان لایه مخاطی پوشش معده خود را وارد کند، همچنین این باکتری دارای گیرنده‌هایی است که به آن امکان می‌دهد از طریق مخاط به سلول‌های پوشش معده بچسبد. هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند مولکول‌های اوره را که در بافت‌ها و مایعات بدن انسان وجود دارد، تجزیه کند. این فرآیند باعث ایجاد آمونیاک و دی‌اکسید کربن می شود و غلاف ابرمانندی در اطراف باکتری به وجود می‌آورد که آن را از اسید معده که باکتری‌های معمولی را می‌کشد، حفاظت کند. ایجاد آمونیاک از طریق فعالیت اوره آزی مستقیما سبب آسیب می گردد. همچنین توکسین لیپو پلی ساکارید ممکن است سلول های مخاطی را تخریب کند. سویه‌هایی از هلیکوباکتر که ژن های خاصی به نام cagA و VacA را داشته باشند، باعث تولید توکسین می شوند و بیشتر از همه پاتوژن هستند. با این حال حتی این گونه‌ها نیز از پوشش معده به سایر نقاط بدن گسترش پیدا نمی‌کنند.

سیگار کشیدن خطر زخم‌های گوارشی و سرطان‌های مربوط به هلیکوباکتر پیلوری را افزایش می دهد، و همچنین درمان آنتی بیوتیکی این عفونت را مشکل‌تر می‌کند.



مکانیسم بیماریزایی هلیکوباکتر پیلوری

علائم بالینی:

عفونت حاد به صورت بیماری دستگاه گوارش فوقانی در کمتر از ۱ تا ۲ هفته، با تهوع و درد و گاهی با استفراغ و تب همراه است. عفونت هلیکوباکتر پیلوری، ممکن است، پس از یکبار مستقر شدن، برای سال ها و حتی تا پایان عمر باقی بماند. عفونت هلیکو باکتر پیلوری در حدود ۹۰٪ بیماران مبتلا به زخم اثنی عشر و در حدود ۵۰-۸۰٪ بیماران مبتلا به زخم معده وجود دارد. همچنین هلیکوباکتر پیلوری ممکن است در کارسینوم و لنفوم معده نقش داشته باشد.

روشهای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری *(H.pylori)*

آزمایشات مستقیم و غیر مستقیم متعددی در تشخیص *H.pylori* مورد استفاده قرار می گیرد. آزمایشات مستقیم شامل (روشهای تهاجمی *Invasive*) بوده و اساساً با روش اندوسکوپی صورت می گیرد.

آزمایشات مستقیم *(Direct tests)*:

اندوسکوپی(*Endoscopy*):

در اندوسکوپی مشخصات اختصاصی عفونت *H.pylori* مشاهده نمی شود ولی درصورتی که عفونت همراه با گاستریت باشد قرمزی منتشر در لایه مخاطی دیده می شود. به هر حال تشخیص قطعی عفونت *H.pylori* در اندوسکوپی به تهیه بیوپسی از معده و دئودنوم بستگی دارد.

بافت شناسی(*Histology*):

این روش یکی از روشهای قابل قبول در تشخیص می باشد. که به عنوان روش استاندارد طلایی(*Gold standard*) در نظر گرفته شده است. در صورت آلوده بودن شخص به *H.pylori* ، باکتری با شکل مشخص خود(حالت مارپیچی یا S شکل) و معمولا به تعداد فراوان در ناحیه آنتروم معده، در سطح سلولهای پوششی و غالبا روی مخاط دیده می شود. در این تکنیک از رنگ آمیزیهای مختلفی چون رنگ آمیزی ایمونولوژی (*Immunology stain*)، رنگ آمیزی گیمسا(*Giemsa- stain*)، رنگ آمیزی هماتوکسیلین– ائوزین (*Hematoxylin-eosin*) استفاده می شود. به علت استفاده از تکنیک های رنگ آمیزی این روش وقت گیر و پرهزینه است. این روش علاوه بر تشخیص عفونت، درجه التهاب، حضور یا عدم حضور MALToma و سرطان معده را مشخص می کند.

کشت:

کشت *H.pylori* بسیار وقت گیر و مشکل بوده و تنها در ۷۰-۳۰٪ از موارد قادریم که باکتری را از روی نمونه های بیوپسی کشت دهیم. این تست ویژگی بالایی دارد ولی حساسیت آن بستگی به شرایط انتقال نمونه های بیوپسی و تجربه افراد آزمایشگاه دارد. کشت باکتری بعد از انتقال نمونه های بیوپسی تا ۲٤ ساعت در درجه حرارت پایین (حدود ٤ درجه) نتایج ایده آلی به همراه دارد ، در صورتی که درجه حرارت بالا (حدود ۲۰ درجه) تعداد موارد کشت مثبت را به طور چشمگیری کاهش می دهد. همچنین در انتقال نمونه های بیوپسی باید غلظت اکسیژن را به حداقل رسانده و از محیط انتقالی مناسب نیز استفاده نمود. به هر حال *H.pylori* یک ارگانیسم حساس و سخت رشدی می باشد که جهت انتقال آن به آزمایشگاه نمونه ها باید ظرف مدت ٤ تا ٦ ساعت کشت داده شوند در صورت نیاز به مدت زمان بیشتر می بایست نمونه ها در ٤ درجه سانتیگراد و یا در ۲۰- درجه

سانتیگراد ذخیره شوند. همچنین محیط های کشت باکتری باید با اضافه کردن خون دفیبرینه گوسفند و آنتی بیوتیکهای مناسب اختصاصی شوند تا از رشد سایر ارگانیسم ها ممانعت شود.

تست اوره آز سریع(*Rapid urease test*):

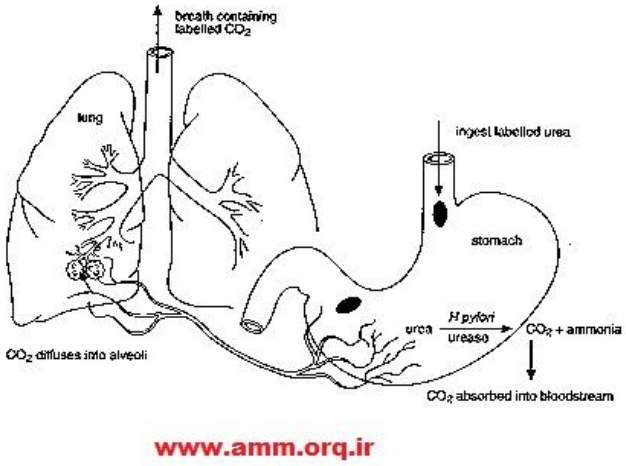
این تست بر اساس فعالیت اوره آزی باکتری استوار است. در این آزمایش بلافاصله بعد از تکه برداری، بافت در محیط حاوی اوره قرار می گیرد و در صورتی که شخص آلوده به *H.pylori* باشد اوره تجزیه شده و در نهایت محیط قلیایی می شود که این واکنش با تغییر رنگ از زرد به صورتی قابل رویت می باشد. نتایج تست ممکن است به علت فعالیت پائین آنزیم، استفاده از عوامل آنتی بیوتیکی، ترکیبات بیسموت تغییر کند.

آزمایشات غیرمستقیم یا غیر تهاجمی(*Non-Invasive test or Indirect test*) :

در این آزمایشات غیر مستقیم نیاز به نمونه بیوپسی نبوده و بیمار مورد تهاجم قرار نمی گیرد.

اوره آز تنفسی *UBT* (*Urea breath test*):

این تست روشی مطمئن و قابل اطمینان برای تشخیص عفونت *H.pylori* می باشد. حساسیت ۹۴/۷٪ و ویژگی ۹۸٪ بوده که در آن اوره با کربن نشاندار ۱۳ یا۱۴ از طریق خوراکی به بیمار داده می شود. اوره پس از تجزیه آنزیمی به وسیله اوره آز هلیکوباکتر، به آمونیاک و دی اکسید کربن تبدیل شده که گاز اخیر توسط جریان خون به ریه ها رسیده و از آن طریق دفع شده و سپس میزان Co_2 نشاندار بازدمی اندازه گیری می شود . ۱۵-۱۰ دقیقه بعد بیمار شروع به بازدم در داخل Breath card می نماید.اوره با کربن نشاندار ۱۳ گرچه به طور گسترده استفاده می شود ولی نسبتا" گران می باشد زیرا نیاز به تجهیزات اسپکترومتری برای اندازه گیری ایزوتوپ غیر رادیواکتیو C_{13} می باشد. به دلیل غیر رادیواکتیو بودن C_{13} ، بیشتر در زنان حامله و کودکان استفاده می شود. اوره با کربن نشاندار ۱۴ توسط دستگاه Scintillation اندازه گیری می شود و نسبت به کربن نشاندار ۱۳ ساده تر و ارزانتر انجام می شود.*UBT* می بایست حداقل ۲ هفته بعد از قطع مصرف دارو های مهار کننده پمپ پروتون (PPIs) و ٤ هفته بعد از مصرف ترکیبات بیسموت دار یا هر آنتی بیوتیک دیگری انجام شود. همچنین بیمار به مدت ٦ ساعت باید ناشتا باشد. اگر این مورد لحاظ نشود نتایج منفی کاذب معمول خواهد بود. همچنین این تست جهت پیگیری و موفقیت در درمان دارویی بیماران نیز مفید می باشد.



www.amm.orq.ir

طرح شماتیک از مکانیسم تست اوره آز تنفسی

دستگاه Heliprobe

آزمایشات سرولوژیک:

در بیماری آلوده با هلیکوباکترپیلوری، در پاسخ به عفونت، ابتدا آنتی بادی IgM سپس IgA وIgG تولید می شود. در این آزمایش آنتی بادی تولید شده بر علیه *H.pylori* توسط روش Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA) مورد ارزیابی قرار می گیرد. در تست های سرولوژی تشخیص عفونت فعال امکانپذیر نیست، زیرا یک بیمار می تواند حتی پس از گذشت سال ها از بهبودی و ریشه کن شدن باکتری تیتر آنتی بادی بالایی برعلیه *H.pylori* داشته باشد. بنابراین جهت بررسی و ارزیابی موفقیت در درمان مناسب نمی باشد. این روش حساسیت و ویژگی بیش از ۸۰٪ داشته و هزینه کمتری جهت انجام تست مورد نیاز می باشد.

تست آنتی ژن مدفوعی *SAT (Stool Antigen Test)* :

آزمایش مناسبی برای تعیین کارایی درمان در افراد آلوده به *H.pylori* می باشد. این تست جهت تعیین آنتی ژن *H.pylori* در نمونه های مدفوع کاربرد دارد.

آزمایش آنتی بادی ادرار و بزاق:

در این روش وجود آنتی بادی *IgG* ضد *H.pylori* در نمونه های بزاق و ادرار ارزیابی می شود. این تست در نمونه های بزاق حساسیت ۸۱٪ و ویژگی ۷۳٪ داشته و در ادرار به ترتیب دارای حساسیت و ویژگی ۸٦٪ و ۹۱٪ می باشد.

PCR :

امروزه سعی می شود جهت تشخیص *H.pylori* از روشهای سریع، دقیق وغیر تهاجمی استفاده شود که به وسیله آن به توان سیر ریشه کنی عفونت را بهتر از قبل پیگیری نمود. از جمله این روشها بررسی توالی ژنتیکی باکتری در نمونه می باشد. از نمونه های بیوپسی و شیره معده آسپیره شده، جهت تشخیص و بررسی توالی های مختلف *DNA* استفاده می شود.. تعیین *DNA* باکتری در نمونه های مختلف ارزش بالایی دارد، زیرا نه فقط در تشخیص بیماری کمک کننده است، بلکه جهت ژنوتیپینگ، تعیین مارکرهای ویرولانس و همچنین بررسی راحت تر و دقیق تر راه های انتقال باکتری کمک قابل توجهی خواهد کرد.

جدول مقایسه روشهای متداول در تشخیص *H.pylori*

روش	حساسیت(٪)	ویژگی(٪)	نوع روش	خصوصیات تست
کشت	۷۵-۹۰	۱۰۰	تهاجمی	جهت بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی مناسب است
هیستولوژی	۹۰->۹۵	۹۵-۹۹	تهاجمی	بعلت توزیع نابرابر ارگانیسم، به چندین نمونه بیوپسی نیاز دارد.
تست اوره آز سریع	۸۵-۹۵	۹۰-۹۵	تهاجمی	ساده بوده و نتایج منفی کاذب ناشی از مصرف اخیر آنتی بیوتیک و مهار کننده پمپ پروتونی مشاهده می شود
آزمون تنفسی کربن ۱۳ (غیر رادیواکتیو)	۹۵	۹۸-۱۰۰	غیر تهاجمی	در زنان حامله و بچه ها استفاده می شود و به طور گسترده در دسترس نیست. جهت پیگیری درمان مناسب است. نتایج منفی کاذب ناشی از مصرف اخیر آنتی بیوتیک و مهار کننده پمپ پروتونی مشاهده می شود.
آزمون تنفسی کربن ١٤ (رادیواکتیو)	۹۵	۹۰-۱۰۰	غیر تهاجمی	بیمار با مواد رادیواکتیو روبرو می شودجهت پیگیری درمان مناسب است. نتایج منفی کاذب ناشی از مصرف اخیر آنتی بیو تیک و مهار کننده پمپ پروتونی مشاهده می شود
سرولوژی	۸۰-۹۵	۸۵->۹۵	غیر تهاجمی	به طور گسترده در آزمایشگاهها استفاده می شود. ابزار مناسبی جهت غربالگری بیماران قبل از اندوسکوپی می باشد. جهت مطالعات اپیدمیولوژی مناسب است. جهت کنترل درمان مناسب نیست.
آزمون آنتی ژن مدفوع	٩٤	۹۷	غیر تهاجمی	روش غیر تهاجمی ارزان و نسبتا جدیدی است. جهت تعیین عفونت فعال قبل و بعد از درمان کاربرد دارد
PCR	۹۵	۱۰۰	تهاجمی	

منابع:

1) Dyspepsia - proven peptic ulcer, Clinical Knowledge Summaries (June 2008)

2) The management of dyspepsia in primary care, MeReC Briefing, No 32, 2006.

3) Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al; Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007 Jun;56(6):772-81. Epub 2006 Dec 14.

4)Shah R; Dyspepsia and Helicobacter pylori. BMJ. 2007 Jan 6;334(7583):41-3.

5) Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ (July 2006). "Pathogenesis of Helicobacter pylori infection". Clin Microbiol Rev **19** (3): 449–90.

6) Boyanova, L.editor (2011). Helicobacter pylori. Caister Academic Press. ISBN 978-1904455-84-4

به پیوست لیست کامل" آزمایش ها ی مربوط به هلیکوباکتر پیلوری " قابل انجام در آزمایشگاه مرکزی فردیس ارائه می گردد .

- **اندازه** گیری آنتی بادی های *IgM ,IgG, IgA* بر علیه *H.pylori* با روش *ELISA*
- **تست** آنتی ژن **مدفوعی** *H.pylori* ***Stool Antigen Test)*** **با** روش *ELISA*)
- تست اوره آز تنفسی *UBT* با دستگاه *Heliprobe*

آزمایشگاه مرکزی فردیس

(مجتمع تخصصی)

کلینیکال - آناتومیکال

FARDIS CENTRAL LAB

(Specialty Complex)

Clinical – Anatomical

کرج ، فردیس ، فلکه دوم ، خیابان پانزدهم ، پلاک ۳۵

تلفکس : ۵-۶۵۴۱۹۰۰

WWW.fardislab.com

info@ fardislab.com

تهیه شده در کمیته علمی – پژوهشی

آزمایشگاه مرکزی فردیس

خرداد ماه ۱۳۹۱