مقـاله بازآمـــوزی

براساس تصویب دفتر بازآموزی جامعهٔ پزشکی وزارت بهداشت، درمان وآموزش پزشکی به پاسخ دهندگان پرسشهای مطرح شده دراین مقاله امتیاز بازآموزی تعلّق می گیرد.

هلیکوباکترپیلوری

دکتر علی غفوری[1] ، دکتر اکبر توکلی[2] ، دکتر بابک بابان[3] ،

خلاصه:

هلیکوباکترپیلوری باسیل گرم منفی، اوره آز مثبت و کاتالاز مثبت بوده که در تمامی نقاط جهان از انسان جدا شده و در غالب موارد بیوپسی از مبتلایان به گاستریت، زخم معده و اثنی عشر و مواردی از سرطان معده یافت می شود و مکرراً از افراد فاقد علائم اولسرپپتیک نیز جدا شده است. در حال حاضر نصف جمعیت جهان دچار عفونت هلیکوباکترپیلوری هستند و این عفونت بندرت برطرف می شود، هلیکوباکتر خطر ابتلاء به سرطان معده را بشدت افزایش داده و بدین دلیل WHO آنرا جزو عوامل سرطان زایی انسانی نوع ۱ طبقه بندی کرده است (۱).

نظر به اهمیت مسئله در این مقاله در رابطه با ساختمان، بیماریزائی و تشخیص و درمان این عفونت میکروبی بحث خواهد شد.

کلید واژه: هلیکوباکترپیلوری ـ کامپیلوباکترپیلوری ـ اولسرپپتیک ـ دیس پپسی

مقدمه:

در سال ۱۹۸۳ برای نخستین بار توسط Marshall and Warren (۲ ,۳) و بطور همزمان توسط موریس و نیکلسون (۴) یک نوع باکتری گرم منفی، مارپیچی، متحرک از مخاط معده انسان جدا و شناسایی شد که در ابتدا کامپیلوباکترپیلوری و در یکی دو سال اخیر هلیکوباکترپیلوری نام گرفت. این کشف موجب شد تا به گاستریت نوع B با دید جدید نگریسته شود و نقش این باکتری در ایجاد گاستریت بیشتر بررسی شود. در ابتدا اطلاعات چندانی از خصوصیات مرفولوژیک و بیماریزائی باکتری در دست نبود، لیکن با تلاشهای محققین طی سالهای اخیر اطلاعات وسیع و نسبتاً جامعی از ویژگیهای باکتری را شناسایی و معرفی نموده اند که در ذیل به آن اشاره می گردد.

ساختمان باکتری (Structure):

هلیکوباکترپیلوری به لحاظ مورفولوژیک شبیه گونه های کمپیلوباکتر است ولی از نظر بیوشیمیایی و خصوصیات ژنتیکی از سایر اعضاء جنس کامپیلوباکتر متفاوت بوده و باین علت در طبقه ای جدید بنام هلیکوباکتر جای گرفت. این باکتری بعلت دارا بودن فلاژلهای قطبی متشکل از ۴ تا ۶ فلاژل، اسیدهای چرب و سطح صاف تفاوتهای بیشتری را نسبت به جنس کامپیلوباکتر نشان می دهد (شکل شماره ۱).

هلیکوباکترپیلوری، ارگانیسمی است کوچک، کاملاً متحرک، میکروآئروفیل، فاقد توانائی تولید اسپوروگرم منفی، بصورتی میله ای خمیده بطول ۳/۵ و عرض بین ۰/۵ تا ۱ میکرومتر که در لایه موکوسی پوشاننده

۱- متخصص جراحی عمومی و فوق تخصص جراحی قفسه سینه ـ دانشیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمان ایران
۲- دکترای تخصصی میکروب شناسی ـ دانشیار گروه میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی اصفهان
۳- دکترای تخصصی میکروب شناسی ـ استادیار دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی تهران

اپیتلیوم معده زندگی می کند.

هلیکوباکترپیلوری در حرارت زیر ۳۰ درجه سانتیگراد قادر به رشد نمی باشد و بشدت تولید اوره آز می کند که تولید این آنزیم از خصوصیات بارز بیوشیمیائی میکروب است و در کامپیلوباکتر وجود ندارد و این آنزیم اوره را به آمونیاک و دی اکسید کربن تبدیل می کند و باکتری را در مقابل محیط اسیدی معده محافظت می نماید. این باکتری اکسیداز مثبت و کاتالاز مثبت است. رشد باکتری در محیط های کشت مایع محدود بوده و برای رشد بهتر باکتری نیازمند به خون و یا همین (Hem-in) می باشد. باکتری روی محیط های جامد مثل شکلات و آگارخونی طی ۲ تا ۵ روز انکوباسیون رشد می کند.

هلیکوباکترپیلوری با رنگهای معمولی مانند هماتوکسیلین و ائوزین رنگ نمی گیرد و همین امر دلیل عدم تشخیص آن توسط پالمر (Palm-er) در سال ۱۹۵۰ بود (۵).

امروزه ژنوم هلیکوباکتر بطور کامل ردیف بندی و سکانس آن مشخص شده است (۶). تجزیه ژنوم، خواص بیوشیمیایی و فیزیولوژیک آن را تأیید نموده است و همچنین خواص دیگر مشترک با سایر پاتوژنهای مخاطی مانند حرکت، تسویه آهن خون، ایجاد سیستم مجموعه چسبندگی مؤثر در بیماری زائی و شبکه تنظیم کننده نیز مشخص شده است.

خصوصیت بیماری زائی:

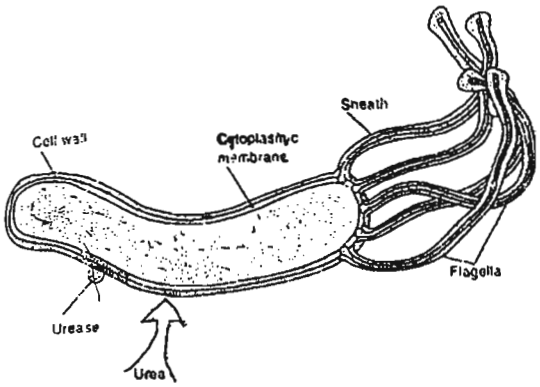
هلیکوباکتر تاکنون هیچگاه از خون جدا نشده و ارگانیزم مهاجمی محسوب نمی شود. مکانیزم های مختلفی برای بیماری زایی هلیکوباکتر پیلوری مطرح شده است، آنزیم اوره آز که توسط گونه های معدی هلیکوباکتر به مقدار زیاد ترشح می شود، در سطح باکتری قرار داشته و یکی از اولین عوامل بیماری زایی و کلونیزاسیون باکتری بود که تشخیص داده شد (۷، ۱).

اوره آز اوره را به CO_2 و NH_4OH تبدیل می کند که هلیکوباکتر را قادر به ادامه حیات در محیط بسیار اسیدی لومن معدی می نماید و ایجاد یک ابر آمونیاکی بدور باکتری می نماید (۸). خود آمونیاک تولیدی مستقیماً بر اپیتلیوم معدی اثر مخرب می گذارد.

همچنین هلیکوباکتر تولید یک سایتوتوکسین بنام Vacuolating A (Vac A) می نماید که کار آن ایجاد حفره در بافت معدی می باشد (۱۰، ۹). باکتری نیز با حرکت خود و سوراخ کردن مخاط و جایگزینی در حفره ایجاد شده تولید بیماری می کند. همچنین هلیکوباکتر دارای یک پروتئین ۱۲۰ KD می باشد که بهمراه مقدار زیادی از VAC A ترشح و بنام Cytotoxin - Associated Gene A (Cag A) نامیده می شود (۱۳، ۱۱). امروزه نقش این دو عامل پروتئینی در ایجاد سرطان معده و زخم معده بخوبی آشکار شده است (۱۳، ۱۴).

بین حضور Cag A (اینترلوکین ۸) نیز رابطه مشخصی پیدا شده است و بر اساس آن Cag A یک مارکر برای یک سری از ژنها در هلیکوباکتر بنام جزایر بیماریزا می باشد (۱۵). همچنین ژنی بنام ICE A نیز در تماس باکتری با اپیتلیوم معدی تولید می شود که بالطبع بیماری زا می باشد (۱۵).

همچنین هلیکوباکترپیلوری به آسانی و با اندک تماسی با محلول اسید کلریدریک با pH کمتر از ۴ کشته و از بین می رود. این ویژگی برای اورگانیزمی که جایگاه اولیه آن استقرار در حفره معده می باشد و در مخاط و کریپت های سراسر امری متناقض و مبهم است. لیکن چندین خصوصیت چنین پدیده ای را



شکل شماره ۱- هلیکوباکترپیلوری

می تواند توصیف نماید:

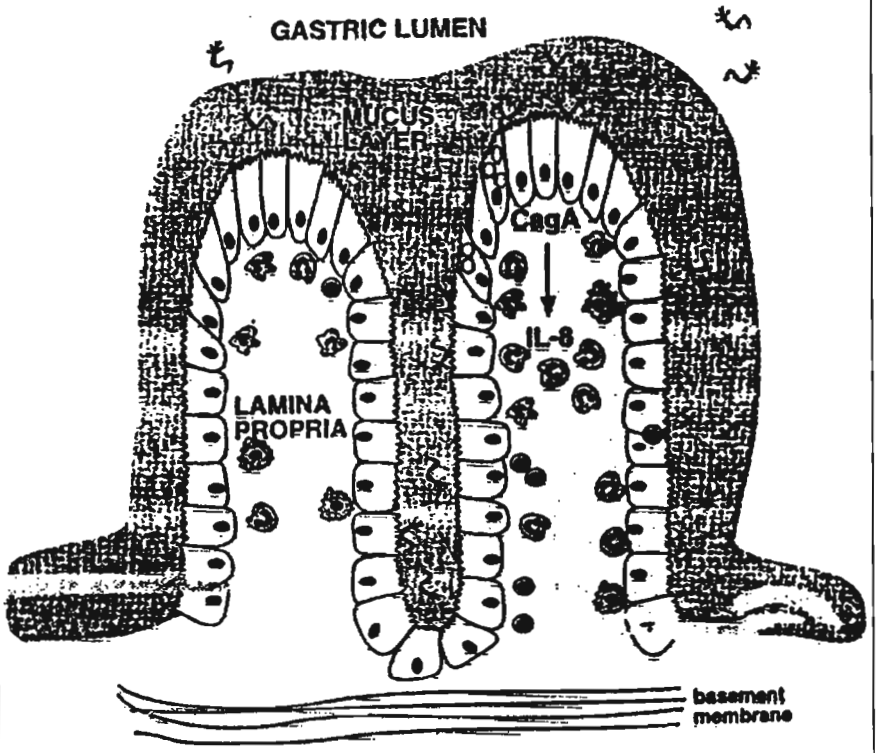
اولاً این مخاط و کریپت های حاوی هلیکوباکترپیلوری بتوسط لایه مخاطی پوشانیده می شوند و بدین طریق از اسید معده در امان می مانند. این لایه مخاطی نسبتاً ضخیم و ویسکوز بوده و در مجاور حفره معده که pH در حدود ۲ دارد، pH در حدود ۷/۴ را در سطح سلولهای اپیتلیال تأمین می کند.

دوم آنکه هلیوباکترپیلوری در تولید اوره آز از توانائی بالائی برخوردار است و قادر به آزاد نمودن مقدار قابل توجهی آمونیاک بوده که در ایجاد محیطی با قدرت تامپونی مناسب برای حیات باکتری مفید است.

سومین نکته که در توجیه مطلب فوق مؤثر است، آنکه هلیکوباکترپیلوری بشدت متحرک بوده و حتی در لایه موکوس باویسکوزیته بالا این توانائی را حفظ می کند و لذا می تواند به مکانهائی که دارای pH مناسب است مهاجرت نماید. نکته آخر اینکه عفونت هلیکوباکترپیلوری همراه هیپوکلریدری می باشد (۱۶).

در مطالعات دیگر ۲۰۰ مورد هلیکوباکترپیلوری جدا شده از مخاط معده را مورد مطالعه قرار داده و مشاهده نمودند که ۵۳٪ باکتریهای جدا شده توانائی تولید یک نوع سیتوکسین را دارا می باشند. این محصول حساس به حرارت و تریپسین بوده و قدرت

سیتوتوکسیک بر علیه سلولهاسی Hela را دارا می باشند و پروتئینی است با وزن ملکولی بالا (۱۷). این مطالعات در روی سویه هائی که از کشورهای استرالیای، کانادا، انگلستان، پرو و آمریکا بدست آمده بود انجام شد. پروتئین مزبور دارای خاصیت پروتئازی بوده و باتخریب مخاط می تواند منجربه تأخیر در انتشار یونهای هیدروژن گردد. تخریب مخاط بافتهای ملتهب معده مؤید آن است که هلیکوباکترپیلوری می تواند گاستریت ایجاد نماید و در مطالعه دیگری نشان دهد که هلیکوباکترپیولری قادر است در خوکهای بدون میکرواورگانیزم (Germ free) ایجاد گاستریت نماید. در این مطالعه همچنین مشخص شده است که هلیکوباکترپیلوری علیرغم وجود دفاع هومورال و سلولی بر علیه آنتی ژنهای هلیکوباکترپیلوری قادر به استقرار در مخاط معده حیوانات مورد آزمایش می باشد (۱۸). بنابر علل فوق هلیکوباکترپیلوری را عامل اولیه گاستریت های غیرایمیون (تیپ B گاستریت) می دانند.



شکل شماره۲- تولید پاسخ حاد التهابی اتصال باکتری به اپیتلیوم معدی و آسیبی که در اثر ترشح سایتوکاین به آن وارد می شود تولید کموکاینهایی همچون اینترلوکین ۸ (IL-8) را از اپیتلیوم معدی تحریک می نمایند. نوتروفیلها به محل عفونت در اثر IL- 8 و فاکتورهای کموتاکتیک باکتریایی جذب می شود. ماکروفاژها نیز همچنین به محل عفونت در اثر دیواره باکتری (LPS) و دیگر عوامل جذب می شوند. گونه های هلیکوباکترپیلوری که تولید Cag A نیز می نمایند بر روی کروموزومهای خود جزایر بیماریزایی (Pathogenicity Islands) را حمل می نمایند. باکتریهایی که حاوی Cag A هستند میزان بیشتری IL- 8 را نسبت به باکتریهایی که Cag A ندارند تولید می کنند.

روش های دفاعی میزبان:

اسید معده نقش حفاظتی بسیار مهمی در مقابل اورگانیزمهای روده ای دارد. با اینحال این سد دفاعی کفایت لازم در محافظت و جلوگیری از استقرار هلیکوباکترپیلوری در مخاط معده را دارا نمی باشد. در افراد بیمار تیتر بالائی از آنتی بادی های IgG و IgA در مقابل هلیکوباکترپیلوری پیدا می شود. مطالعات سرولوژیک متعدد نشان می دهد که هلیکوباکترپیلوری علیرغم وجود تیتر بالای آنتی بادی های مذکور می تواند پایدار باقی بماند. تاکنون معلوم نشده است چرا این آنتی بادی های اختصاصی توانائی لازم را در ممانعت از استقرار و یا اپسونیزاسیون هلیکوباکترپیلوری ندارند. مطالعه دیگر نشان می دهد که در بچه ها تنها تیتر سرمی IgG در برابر هلیکوباکتر در بچه های دارای علائم گاستروودئودنال بمنظور انجام تستهای غربالی سریع مفید می باشد (۱۹).

التهاب اولین پاسخ به عفونت هلیکوباکترپیلوری است که با انفیلتراسیون سلولهای پلیمورنوکلئار و مونونوکلئاز به داخل لامینای معدی مشخص و همراه با ازدیاد تکثیر اپیتلیوم معدی است. سلولهای مونونوکلئار شامل IgA سلولهای B، سلولهای T CD4+ هستند (۲۰). با توجه به غیرمهاجم بودن هلیکوباکترپیلوری در حالت کلی سیستم ایمنی در برابر آن مؤثر عمل نمی نماید ولی بهرحال یک واکنش التهابی ایجاد می کند که قادر به حذف آن نیست. اولین بازتاب این پاسخ ازدیاد تولید و حضور IL8 است که یک کموکاین فعال کننده نوتروفیل می باشد (۲۱,۲۲). همانگونه که در شکل شماره ۲ نیز نشان داده شده است اولین پاسخ میزبان تولید واکنش حاد التهابی است که ابتدا در اثر جسبندگی باکتری به اپیتلیوم معده و تخریب آن آزادسازی IL8 را در پی دارد که خود آن جاذب نوتروفیل بوده و نیز در اثر Lip-opolysaccharide (LPS) باکتری ماکروفاژها به محل اتصال باکتری جذب می شوند (محل عفونت). گونه هلیکوباکترهایی که تولید Cag A می نمایند حامل جزایر بیماری‌زا در داخل کروموزوم هستند و میزان بیشتری IL8 را نسبت به باکتریهایی که CagA(-) هستند تولید می کنند.

گاهی نیز هلیکوباکترپیلوری توسط سیستم ایمنی بعنوان بیگانه تشخیص داده شده و پاسخ آنتی بادی معدی و سرمی را مشاهده می کنیم. وجود آنتی بادی اختصاصی علیه هلیکوباکترپیلوری بعنوان اندیکاتور عفونت بکار می رود و در گاستریت فعال و مزمن ماکروفاژها نیز فاگوسیتوز را انجام و آغازگر پاسخ ایمنی سلولی (T Cell) و عرضه آنتی ژنهای باکتریایی می باشد. ماکروفاژها تولید IL-12 (اینترلوکین ۱۲) و سلولهای T که فعال شده اند تولید اینتروفرون گاما (IFN) می کنند.

تظاهرات بالینی:

هلیکوباکترپیلوری که گاهی از آن تحت عنوان اورگانیزمهای شبیه کامپیلوباکتر Gastric Campylobacter like organism (GCLO) نام می برند بکرات نشان داده است که همراه با تیپ B گاستریت می باشد. این باکتری عمدتاً در قسمت آنترمعده وجود دارد. همچنین مشاهده شده است که درصد بالائی از بیماران مبتلا به گاستریت در مقایسه با آنهائی که مبتلا به گاستریت نیستند حامل هلیکوباکترپیلوری می باشند. اگرچه بر این گزارشات این انتقاد وارد است که بیشتر نمونه از بیماران بعلت دارا بودن علائم بیماریهای قسمت فوقانی شکم که مورد آندوسکوپی واقع شده اند بدست آمده است، ولی بهرحال این نکته محرز است که بیماران مبتلا به گاستریت هلیکوباکترپیلوری بیشتر جدا شده است. در نمونه های بدست آمده از مخاط معده داوطلبان بدون علامت که تحت آندوسکوپی قرار گرفتند مشاهده شده که یک همبستگی همه جانبه ای بین هلیکوباکترپیلوری و گاستریت بر اساس یافته های بافت شناسی وجود دارد.

چنین بنظر می رسد که هلیکوباکترپیلوری در بافت آدنوکارسینومای معدی استقرار نمی یابد، لیکن در مجاور بافتهای فاقد آدنوکارسینوما کلونیزه و مستقر می شوند. مطالعات هیستولوژیک و توپوگرافی گاستریت ها نشان می دهد که هلیکوباکترپیلوری اختصاصاً می تواند بیشتر بعنوان یک پاتوژن عمل کرده و موجب گاستریت شود و کمتر می توان آنرا یک باکتری فلورویا مشترک المنافع قلمداد نمود. هلیکوباکترپیلوری روی سطح سلولهای ترشح کننده موکوس و در داخل حفرات معدی استقرار می یابد ولی به بافت معده حمله نمی نماید. نواحی از مخاط معده که تحت استقرار هلیکوباکترپیلوری قرار می گیرد بصورت غیریکنواخت تظاهر می کند. همچنین هلیکوباکترپیلوری در قسمتهائی از مخاط معده که مبتلا به متاپلازی شده وجود ندارد.

از طرفی تمامی بیماران مبتلا به اولسر دوازدهه در دئودنوم خود حامل هلیکوباکترپیلوری می باشند. در بیماران بازخم دوازدهه که مخاط دوازدهه گرفتار بوده و متاپلازی معده نیز در بیمار مطرح است، هلیکوباکتر نیز وجود دارد. در حالی که چنانچه مخاط دوازدهه سالم باشد، اثری از این باکتری مشاهده نمی شود. این مطلب همچنین مطرح است که هلیکوباکترپیلوری بیشتر و اختصاصاً در سلولهای اپیتلیال معده وجود دارند. گاستریت آنترال تقریباً همیشه در بیماران مبتلا به گاستریت یا اولسر دوازدهه همراه می باشد (۲۳).

نقش هلیکوباکترپیلوری در ایجاد زخم پپتیک:

قبل از کشف هلیکوباکترپیلوری این نکته اثبات گردید که تمام بیماران مبتلا به زخم پپتیک با علت نامعلوم (یعنی زخمهائی که در اثر آسپرین یا داروهای ضد التهابی غیراستروئیدی و یا زخم های همراه با زولینجرالیسون پدید نیامده باشند) دچار گاستریت سطحی مزمن هستند و بنابر این همراهی عفونت هلیکوباکترو بیماری زخم پپتیک و میزان بالای عفونت در مبتلایان به این بیماری در مقایسه با افراد سالم تعجب آور نبود. نکته جالب آن است که که زخم معده و دوازدهه در بسیاری از خصوصیات از یکدیگر کاملاً متمایز و متفاوتند ولی هر دو با عفونت هلیکوباکترپیلوری همراهند. امروز معلوم شده است که هلیکوباکترپیلوری می تواند جزایری از بافت معده را در دوازدهه جایگزین سازد. بعبارت دیگر سبب متاپلازی معدی گردد. وجود این اورگانیزم در دوازدهه با خطر بسیار بالای زخم دوازدهه همراه است.

اپیدمیولوژی:

هلیکوباکترپیلوری و دیگر اورگانیسمهای اوره آز مثبت مرتبط با آن در سراسر جهان یافت می شوند و می تواند هر فردی را با شرائطی اقتصادی گرفتار نمایند. هلیکوباکترپیلوری در بیوپسی ۱۰۰-۶۰٪ مبتلایان به گاستریت، زخم معده و زخم اثنی عشر یافت می شود و مکرر از افراد فاقد علائم اولسرپپتیک جدا شده است. بر اساس مطالعات بافت شناسی و سرم شناسی این نتیجه حاصل شده است که افزایش و شیوع عفونت با هلیکوباکترپیلوری همانند شیوع گاستریت با بالا رفتن سن افزایش می یابد تا جائیکه در سن ۶۰ سالگی بیش از نیمی از جمعیت به آن آلوده هستند. عفونت در سیاهپوستان دو برابر سفیدپوستان است که بدلیل اختلافات ژنتیکی می باشد. گرچه ادعا شده است که عفونت هلیکوباکترپیلوری در کشورهای در حال توسعه نسبت به کشورهای صنعتی در همه نسنی

شایعتر است، ولی مدارک مستدلی در دست نیست که تأیید کند عفونت هلیکوباکترپیلوری در مناطق و کشورهای در حال توسعه بیشتر از کشورهای صنعتی باشد. میزان عفونت در اشخاص زیر ۲۰ سال در کشورهای پیشرفته پائین است ولی در کشورهای در حال توسعه عفونت در سنین پائینتری آغاز می شود و شیوع بیش از ۸۰٪ در بالغین دیده شده است و بنظر می‌رسد که بیشتر افراد تا سن ۱۰ سالگی به این باکتری آلوده می شوند و این نشان دهنده نقش بهداشت در انتقال عفونت است. منبع و مکانیسم انتقال هلیکوباکترپیلوری ناشناخته مانده است. معهذا بنظر می‌رسد که بزرگترین منبع آنها انسانهای آلوده باشند و اطلاعات و سوابق قبلی وقوع انتقال شخص به شخص را مطرح می کند.

وجود اورگانیزمهای مارپیچی (اسپیرال) در دهان و دستگاه گوارش تحتانی در تمام پستانداران امری شایع و عادی است. بنابراین مناطق محل ذخیره عمده ای برای هلیکوباکترپیلوری می تواند باشد. با اینحال مطالعات مبتنی بر کشت و بافت شناسی هیچکدام وجود هلیکوباکترپیلوری را در جایگاه های خارج معدی تأیید ننموده اند. هلیکوباکترپیلوری بکرات از افراد دچار سوء هاضمه (Dyspeptic) و زخم پپتیک جدا شده است. عفونت هلیکوباکترپیلوری موجب مثبت شدن تستهای سرمی بمدت طولانی و یا برای تمام عمر می گردد. اگر مثبت شدن تست سرمی مؤید بیماری عفونی هلیکوباکترپیلوری باشد، وفور سالانه در جمعیت بالغ در کشورهای توسعه یافته تقریباً یک درصد می باشد. سایر اورگانیزمهای معده شبیه به کامپیلوباکتر در طیف وسیعی از حیوانات از جمله جوندگان و Primates و خوک ها مشاهده شده است. تماس انسان با پریماتهای غیر انسانی از لحاظ فراوانی نمی تواند دلیل موجه و کافی بیان کننده این نکته باشد که عفونتهای انسانی بتوسط هلیکوباکترپیلوری از این راه به انسان سرایت می کنند (۲۴).

انتقال هلیکوباکترپیلوری از طریق مواد غذایی مبهم و غیرممکن بنظر می رسد. انتقال انسان به انسان هلیکوباکترپیلوری ممکن است مطرح باشد.

تشخیص:

الف- تهیه نمونه مناسب: بهترین نمونه برای جداسازی و کشت هلیکوباکترپیلوری، بیوپسی مخاط معده و بدست آوردن محصول شستشوی معده می باشد.

برای گرفتن نمونه از مری، معده و دوازدهه بهتر است بیمار از روز قبل چیزی میل نکرده باشد. نحوه گرفتن نمونه با آندوسکوپ باین صورت انجام می شود که ابتدا باید آندوسکوپ با بکار گرفتن پنس مخصوص بیوپسی (فورسپس) از مری، معده یا دوازدهه نمونه تهیه می گردد. همچنین می توان با بکاربردن برسهای مخصوص دارای لفاف (Sheated Brush) نواحی مشکوکی را چندین مرتبه بروس مالید تا نمونه های سلولی کافی بدست آید.

در روش دیگر، وارد کردن ۳۰ تا ۲۵ سانتیمتر مکعب سرم فیزیولوژی استریل از طریق کانال بیوپسی آندوسکوپ در محل ضایعه و جمع آوری محلول بکمک ساکشن در داخل یک ویال استریل می توان عمل کرد.

قابل توجه اینکه چنانچه زخم معده وجود داشته باشد، بهتر است نمونه بیوپسی از پایه زخم، مخاط معدی اطراف زخم و از هر کدام از چهار قسمت حاشیه اطراف زخم جمع آوری گردد. نمونه بدست آمده از طریق بیوپسی را در محلول ۰/۹ درصد نمک هموژنیزه می کنیم و جهت آزمایش مستقیم و کشت آماده می کنیم.

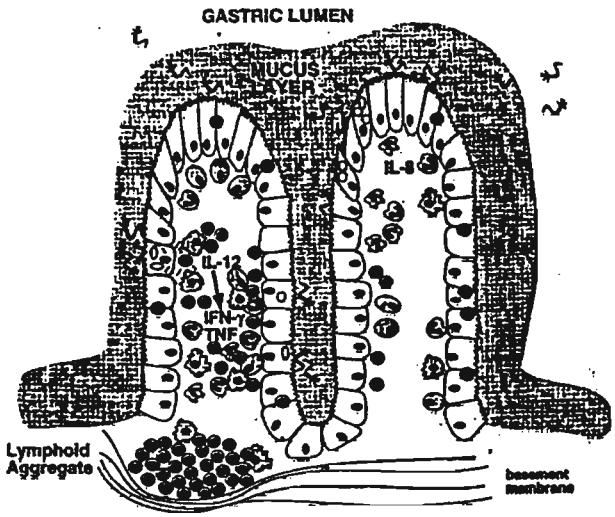
این باکتری در رنگ آمیزی گرم یا هماتوکسیلن ائوزین، گیمساوآکریدین قابل مشاهده است ولی رنگ آمیزی Warthin Star-ry Silver حساسترین روش می باشد.

ب- کشت: در محیطهای کشت مخصوص هلیکوباکترپیلوری تاکنون تفاوتهای چشمگیری قائل شده اند و بنظر می رسد تهیه یک محیط کشت ایده آل مستلزم تلاشهای بیشتری می باشد و محیطهای Skirrow آگار شکلاتی و محیط Marshall brain heart infusion بهمراه خون اسب و سایر مکمل ها بکار گرفته شده اند.

Goodwin و همکارانش محیط مارشال بهمراه وانکومایسین (۶ میلی گرم در لیتر) و نالیدیکسیک اسید (۲۰ گرم در لیتر) و آمفوتریسین (۲ میلی گرم در لیتر) رضایتبخش تر از سایر محیطهای مرسوم قلمداد کردند. محیط تازه تهیه شده و رطوبت بالا برای جداسازی هلیکوباکترپیلوری بسیار ضروری است. همچنین محیطهای حاوی مکملهای سولفات آهن، سدیم متابی سولفیت و سدیم پیروات که جهت جداسازی کامپیلوباکترژژونی بکار می رود برای جداسازی هلیکوباکترپیلوری نقش مهارکننده و منفی بازی می کند (۲۵).

همانند محیط، ترکیب هوای مناسب جهت کشت هلیکوباکترپیلوری نیز مورد بحث می باشد. هوائی از ۷ تا ۱۲ درصددی اکسید کربن، ۰ تا ۸۵ درصد هیدروژن، ۰ تا ۸۵ درصد ازت گزارش شده اند. عموماً شرایط جوی جای بیهوازی (با بکار گرفتن کازپک) یا تخلیه هوای آن و جانشین نمودن با جوی شامل ۵ تا ۶ درصد اکسیژن مناسب است.

مدت انکوباسیون نیز ۳ الی ۴ و حداکثر ۷



شکل شماره ۳- گاستریت مزمن فعال: ماکروفاژهای جذب شده به لامینای معدی شروع به فاگوسیتوز باکتریهای مهاجم به اپیتلیوم معدی را می نمایند. تولید اینترلوکین ۱۲ توسط T cells واکنش التهابی را تشدید می نمایند. بطور همزمان لنفوئید نیز در لامینا جمع می شود که تمامی این عوامل و تجمع مواد با هم خود بصورت یک منبع اضافی پلاسما سل مولد آنتی بادی و T cells عمل می نمایند. علیرغم تولید IgA و IgG اختصاصی بر علیه هلیکوباکترپیلوری، میزبان بدون ایمونیزاسیون قادر به مقابله با عفونت هلیکوباکتریایی نمی باشد.

روز می باشد (اکثر نمونه ها پس از ۳ تا ۴ روز انکوباسیون جدا می شوند). کولونیهای هلیکوباکترپیلوری بین ۱ الی ۲ میلیمتر و ظاهری صاف تاموکوئید (کمتر موکوئید) داشته و از لحاظ میکروسکوپی باکتریهای اسپیرال (مارپیچی) یا خمیده، گرام منفی می باشند.

باکتری از لحاظ خصوصیات بیوشیمیائی کاتالاز مثبت، اوره آز مثبت، اکسیدآز مثبت بوده و همچنین قادر است تولید آلکالین فسفاتاز، گاماگلوتامیلوآمینوپپتیدازولوسین آمینوپپتیداز نماید.

روش نوین غیرتهاجمی که امروزه برای اثبات هلیکوباکترپیلوری در معده بکار می رود باین صورت انجام می شود که به بیمار مقداری اوره نشاندار (با C_{13} یا C_{14}) تجویز می نمایند و تولید کربن دی اکسید نشاندار هوای بازدم را از طریف اسپکترومتری و یا بروش Radio Immuno Assay بررسی می کنند. این روش Urea Breath Test بمنظور تشخیص، پیگیری وضع (Follow Up) بیماران پس از درمان و انجام مطالعات اپیدمیولوژیک کارآمد می باشد.

باکتری هلیکوباکترپیلوری مشکل پسند و حساس است و عواملی مانع از رشد این میکرواورگانیسم در محیط کشت می شوند که عبارتند از:

۱- خوردن داروهای بیحس کننده موضعی
۲- استفاده از سایمتدین در هنگام آندوسکوپی
۳- استفاده از آنتی بیوتیکها با آنتاگونیست های H_2
۴- آلودگی فورسپس آندوسکوپ به گلوتارآلدئید
۵- آلودگی فورسپس آندوسکوپ به سایر میکرواورگانیسمها
۶- انتشار توده میکرواورگانیسم در موکوس بافتهای هدف

به دلایل ذکر شده تعیین هلیکوباکترپیلوری در کشت نمونه های بیوپسی دقت کمتری نسبت به سایر روشها دارد. در آزمایشگاههای با تکنسین های ورزیده و با تجربه میزان جداسازی باکتری از کشت حدود ۹۰-۷۵ درصد است (۲، ۲۵).

حساسیت و مقاومت هلیکوباکترپیلوری:

هلیکوباکترپیلوری به طیف وسیعی از آنتی بیوتیکها از جمله اریترومایسین، تتراسیکلین، پنی سیلین، جنتامایسین، سفالوسپورین کلیندامایسین، سیپروفلوکسازین، نیتروفورانتوئین و ریفامپین حساس و نسبت به کلاریترومایسین و مترونیدازول مقاوم می باشد. درمان با عوامل ضد باکتریال باعث از بین رفتن باکتری می شود ولی پس از قطع درمان اغلب دوباره عود می کند. این باکتری به آنتی بیوتیکهائی از جمله سفسولودین، نالیدیکسیک اسید، سولفونامیدها، تری متوپریم، سولفامتوکسازول ووانکومایسین مقاوم می باشند. هلیکوباکترپیلوری همچنین به بیسموت سوب نیترات حساس بوده و به سایمتیدین و رانیتیدین و سوکرالفیت حساس می باشد. وقتی آنتی بیوتیکهای مؤثرتر توأم با بیسموت باشد ریشه کنی موفقیت آمیز اورگانیسم میسر است. بیسموت احتمالاً ایجاد ترکیباتی با موکوس و گلیکوپروتئین می کند که در محیط اسیدی این دارو ایجاد لخته ای از پروتئین و بیسموت می کند که با چسبیدن به پپسین سبب آزاد شدن پروستاگلاندین و فاکتور رشد می گردد که نهایتاً سبب بهبودی زخم می شود. علاوه بر آن، ترکیب بالا زخم را از عمل هاضمه ای حفظ می کند. بیسموت بیش از شش ماه در بافت باقی می ماند و اثرات ضد

ی خود را اعمال می کند. باکتری به اروهای مهارکننده گیرنده های H_2 ست. مدت درمان ۴ هفته است و درمان فونت هلیکوباکترپیلوری تحت عنوان ندارد طلائی تجویز املاح بیسموت، روایمیدازول وآموکسی سیلین یا سیکلین می باشد. اگر باکتری به یمیدازول مقاوم باشد درمان ناموفق است ان ریشه کنی باکتری به کمتر از ۲۰٪ ن می یابد. درمان سه گانه بدون مقاومت ی در بیش از ۸۰٪ موارد به ریشه کنی ری می انجامد و عود زخمهای پپتیک را ش می دهد. تأیید ریشه کنی باکتری از مخاط معده تنها با انجام آزمایش ۴ هفته بعد از اتمام درمان قابل انجام می باشد که باید نمونه های متعدد بیوپسی، برای رنگ آمیزی گیمسا همراه با تستهای تعیین اوره آز و احتمالاً کشت تهیه شود. با توجه به مطالب فوق و نیز این واقعیت که درمان دارویی برای ریشه کنی هلیکوباکتر از طریق مجرای معدی روده ای دارای محدودیتها، عوارض جانبی، و نیز مقاومت میکروبی می باشد. بنابر این واکسن و استفاده از واکنشهای ایمونولوژیک امروز بسیار مدنظر محققان می باشد (۲۶). بطور کلی پیشگیری و کنترل عفونت هلیکوباکترپیلوری به دلیل عدم شناخت دقیق عوامل انتقال مشکل می باشد.

واکسن و کنترل هلیکوباکترپیلوری:

سیستم ایمنی می تواند بسیار نقش مهمی در کنترل بیماری ناشی از هلیکوباکتر داشته باشد. در ابتدا هلیکوباکتر فلیس را در مدل حیوانی بصورت خوراکی برای ایمونیزاسیون بکار بردند که در این مدل آنتی ژن هلیکوباکتر با ادوانت مخاطی توکسین دار کلرا مخلوط گردید و نتیجه خوبی نیز حاصل شد (۲۸ و ۲۷). تحقیقات در این زمینه بسیار اولیه و نیاز به انجام مطالعات و آزمایشات فراوان دیگری می باشد.

REFERENCES:

1- Cunningham M W and Fujinami RS: Effects of Microbes on the immune system, 2000.

2- Marshall BJ: Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal diseases. *Med J Aust.* 1985 142: 439-44.

3- Marshall BJ, Warren JR: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration, *Lancet* _ 1 (8390): 1311-5 1984.

4- Morris A,Nicholson G:Ingestion of Campilobacter pyloridis causes gastritis and raised fasting gastric PH. *Am J Gastroenterology,* 1987, 82;192-199.

5- Palmer ED: Investigation of the gastric spirchaetes of the human, Gastroenterology. 1985, 27: 218-220.

6- Tomp JF. White- O, Kerlavage AR, et al: The complete genome sequence of the gastric pathogen Helicobacter pylori, *Nature*; 1997 388: 539; 547.

7- Hu L - T Foxell PA, Russel R, Mobley HLT: Purification of recombinant Helicobacter pylori urease apoenzyme encoded by ure A and ure B, *Infect Immum;* 1992, 60: 2657-2666.

8- Eaton KA, Brooks CL, Morgan DR, Krakowka S, Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by Helicobacter pylori in gnotobiotic piglets. *Infect Immun*; 1991, 59: 2470-2475, 1991.

9- Leunk RD, Johnson PT, David BC Kraft WG, Morgan DR: Cytotoxic activity in broth cutüre filtrates of Campylobacter pylori. *J Med Microbiol*;1988, 26: 93-99.

10- Cover TL, Cao P, Lind C Tham KT, Blaser MJ: Correlati between vaculoating cytotox production by Helicobacter pyl isolates in vitro and in vivo. *infa Immun*;1993, 5008-5012.

11- Crabtree JB, Taylor JD, Wya JL. et al: Mucose IgA recognitio of Helicobacter pylori 120 KD protein, peptic ulceration and gas tric pathology, *Lancet*;1991, 338 332-335.

12- Tummuru MKR, Cover TL, Blaser MJ: Cloning and expression of a high-molecular - mass major antigen of Helicobacter pylori: evidence of linkage to cytotoxin production, *Infect Immunity*:1993, 61: 1799-1809.

13- Xiang Z, Censisi S, Bayeli PF; et al: Analysis of expression of Csg A and Vac A virulence factors in

43 strains of Helicobacter Pylori reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that Cag A is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin, *Infect Immun;* 1995, 63: 64-98.

14- Blaser MJ: Role of vac A and Cug A locus of Helicobacter pylori in human disease, Aliment plarmacol Ther; 1996, 10: 73-77.

15- Censisi, Lange C, Xiang Z et al: Cag a Pathogenicity island of Hlicobater Pylori, encrodes type I _ Specific and disease _ associated virulence factors, Proc Natl Acad Sci USA; 93: 14648-14653, 1996.

16- Cover TL, Blaser MJ: The patholobiology of Campylobacter infections in human, Ann Rev Med.1989, 40: 209.

17- Robert DL. Proccution of a cytotocin by HP. Rev Infect Dis.1991, 13:686-9.

18-Steves K, Kathryn A, Eaton D, Micheal R, Donna R M: Gastritis induced by ITP: an protoblastic piglets. Rev Infect Dis. 13: 1991, SS690-2 .

19- Steves JC, Howard DC, William TS: Diagnosis of gastritis csused by Helicobacter pylor in children by means of an ELISA. Rev infect Dis.1991, 13: 5700-7007.

20- Hatz RA, Meimarakis G, Bayerdorffer E, Stolte M. Korchner T. Enders G, Characterization of Lymphocytic infitrates in Helicobater Pylori-associated gastritis. *Scand J Gastroenterol;* 1996, 31: 222-228.

21- Crabtee JB, Wyatt JL. Trejdosiewiez LK, et al: Interlecukin - 8 expression in Helicobacter Pylori infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J Clin Pathol;*1994, 47; 61-66.

22- Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J: Helicobacter Pylori cag A gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa, *Gastroeterology*; 1996, 110: 1744-1752.

23- Blaser MJ: Helicobacter Pylori and the pathogenesis of gastroduodenal inflamation. 1990, 101: 626-636.

24- Blaser MJ, Berkonmtz I D, Laforingn O: Campylobacter enteritis: Clinical and epidemiologic fectures. Ann Intern Med. 91: 179 1979

25- Goodwin CS, Blincow E, Warren JR, Waters TE, Sanderson CR, Easton L :Evaluation of cultural techniques for isolating Campylobater Pyloridis from endoscopic biopsies of gastritis mucosa. *clin J Patbol*-38: 1127-1131 1985

26- N.L.H comference Consensus. Helicobater Plori in peptic ulcer disease. *JAMA*;1994, 272: 65-69.

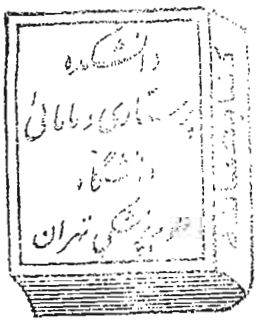
27- Czinn SJ, Cai A, Nedrud JG: Protection of germ - free mice from infection by Helicobater felis after active oral or passive IgA immunization. *Vaccine* 1993, 11: 637-642.

28- Czinn SJ, Nedrud JG: Immunopathology of Helicobater Pylori infection and disease. Springer semin Immunopathol;1997, 18(4): 495-513 1997, Review.

دانشکده پزشکی و دامپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

سؤالات بازآموزی

(هلیکوباکترپیلوری)



۱- اولین پاسخ دفاعی بدن به عفونت هلیکوباکترپیلوری چیست؟

الف)افزایش تیتر IL4 ب) افزایش تیتر IL8

ج) افزایش میزان CagA د) افزایش میزان اسید معده

۲- هلیکوباکترپیلوری یک باکتری:

الف) متحرک گرم منفی است ب) گرم مثبت فاقد اسپوراست.

ج) غیرمتحرک گرم مثبت است. د) متحرک دارای اسپور است.

۳- یکی ازعوامل رشد هلیکوباکتری در محیط کشت:

الف) داروهای بی‌حس کننده موضعی می باشد. ب) آلودگی فورسپس اندوسکوپ به گلوتارالدئید می باشد.

ج) استفاده از سایمتیدین در هنگام آندوسکوپی می باشد د) عدم وجود آنتی بیوتیک یا آنتاگونیستهای H2 .

۴- بهترین ترکیب برای درمان هلیکوباکتر شامل:

الف) ترکیب کلاریترومایسین و مترونیدازول ب) ترکیب سفالوسپورین و بیسموت و مترونیدازول

ج)بیسموت، نیترواپیمیدازول و آموکسی سیلین د) بیسموت، کلاریترومایسین و آموکسی سیلین

۵- بهترین روش برای رنگ‌آمیزی هلیکوباکترپیلوری:

الف) گیمسا ب) وارتین ـ استاری

ج) هماتوکسیلین د) فلوژن

۶- ابتلاء به عفونت هلیکوباکترپیلوری با:

الف) سن و رنگ پوست ارتباط مستقیم دارد. ب) تماس انسان باپریماتهای غیر انسانی ارتباط مستقیم دارد.

ج) رعایت بهداشت ارتباط ندارد. د) مواد غذایی ارتباط بسیار نزدیک دارد.

۷- بهترین روش جداسازی هلیکوباکترپیلوری:

الف) کشت خون ب) بیوپسی از مخاط معده

ج) کشت ادرار د) کشت خلط

۸- هلیکوباکترپیلوری در تمامی بیماران:

الف) مبتلا به اولسر دوازدهه یافت می شود. ب)مبتلا به اولسر معده یافت نمی شود.

ج) دارای مخاط دوازدهه سالم و مبتلا به متاپلازی معده یافت می شود د) در بافت آدنوکارسینومای معدی استقرار می یابند

۹- هلیکوباکتر پیلوری:

الف)عامل اولیه گاستریت غیرایمیون می باشد. ب) در قسمتهای معده که مبتلا به متاپلازی است وجود دارد.

ج) با گاستریت مرتبط نمی باشد. د) همواره بصورت یک پاتوژن بسیار فعال می باشد.

۱۰- هلیکوباکترپیلوری قادر به تولید:

الف) اوره از می باشد ب) لیپاز می باشد

ج) اکسیداز نمی باشد د) کاتالاز نمی باشد

۱۱- سایتوتوکسین Vac A:
الف) توسط هلیکوباکترپیلوری تولید و هیچ نقشی در بیماریزائی آن ندارد ب) یک عامل سرطانزای میکروبی می باشد.
ج) تنها عامل بیماریزایی هلیکوباکترپیلوری است. د) از مواد موجود در دیواره (LPS) باکتری می باشد.

۱۲- هلیکوباکترپیلوری
الف) میکروآئروفیل و دارای فلاژل است. ب) میکروآئروفیل و آمینوپپتیداز منفی است.
ج) میکرو آئروفیل و آلکالین فسفاتاز منفی است. د) میکرو آئروفیل و اکسیداز منفی است.

۱۳- سیستم ایمنی بدن:
الف) بطور مؤثر قادر به ریشه کنی عفونت هلیکوباکتریایی می باشد. ب) با کاهش تولید اینترلوکین ۸ مانع فعالیت هلیکوباکترپیلوری می شود.
ج) قادر به تولید آنتی بادی اختصاصی بر علیه هلیکوباکترپیلوری می باشد. د) به شدت اپسونیزاسیون هلیکوباکترپیلوری می افزاید.

۱۴- از نظر اپیدمیولوژیک میزان ابتلاء به عفونت هلیکوباکتری:
الف) با شرایط وراثتی وژنتیکی افراد ارتباطی ندارد. ب) با محل جغرافیایی سکونت افراد ارتباطی ندارد.
ج) با شرایط اقتصادی افراد مرتبط است. د) با جنس افراد در ارتباط است.

۱۵- هلیکوباکترهایی که دارای فاکتور پروتئین Cag A هستند:
الف) مقدار بیشتری IL8 تولید می نمایند. ب)مقدار کمتری نوتروفیل را فعال می نمایند.
ج) مقدار کمتری لنفوسیت تولید می کند. د) مقدار بیشتری آنتی بادی تولید می کنند.

۱۶- هلیکوباکترپیلوری در محیط:
الف) حاوی اسید کلریدریک با PH کمتر از ۴ قادر به رشد می باشد. ب) حاوی خون و یا همین Hemin بهتر رشد می کند.
ج) حاوی آمونیاک توانایی رشد ندارد د) گشت مایع دارای رشد غیرمحدود است.

۱۷- بهترین حرارت برای رشد هلیکوباکترپیلوری:
الف) ۱۵ درجه می باشد. ب) ۱۹ درجه می باشد.
ج) ۲۵ درجه می باشد. د) بالای ۳۰ درجه می باشد.

۱۸- اختلاف هلیکوباکترپیلوری با گروه کمپیلوباکتر:
الف) در خصوصیات مورفولوژیک است. ب) در خصوصیات ژنتیکی و بیوشیمیایی است.
ج) فقط در خصوصیات بیوشیمایی است. د) فقط در خواص تغذیه ای است.

۱۹- هر چه تیتر IgA و IgA بالاتر رود:
الف) هلیکوباکترپیلوری سریعتر ریشه کن می شود ب) واکنش التهابی علیه هلیکوباکتر پیلوری کمتر می شود.
ج) شاخص مطمئن تری برای تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری می باشد. د) هلیکوباکترپیلوری نسبت به دُرمان داروئی مقاومتر می شود.

۲۰- هلیکوباکترپیلوری یک عامل مؤثر در:
الف) ایجاد سرطان معده می باشد. ب) بیماریهای اتوایمون می باشد.
ج) عفونتهای خونی می باشد. د) محافظت معده بر علیه آنزیمهای مخرب معده می باشد.