روش غیرتهاجمی آزمایشگاهی برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری

دکتر دردی قوجق[1*]، دکتر شهریار سوادکوهی[2]

۱- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- بخش داخلی، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

Title: *Non- invasive assay for diagnosis of Helicobacter pylori*

Authors: *Qujeq D,(PhD); Savadkohi Sh,(MD).*

Introduction: *The diagnosis of Helicobater pylori infection in human may be accomplished with or without endoscopy. Each of these methods requires several hours to days before the final test result is known. We sought to determine whether direct measurement of ammonium level by spectrophotometric method allows accurate diagnosis of Helicobater pylori infection.*

Methods: *In patients (n=32) with mean age of 49.7 ± 5.4 years undergoing upper GI endoscopy had gastric juice (5ml) was collected tested for ammonium using spectrophotometric method. Control subjects (n=11), with mean age of 45.8 ± 7.9 years were subjects without Helicobacter pylori undergoing upper GI endoscopy. Ammonium concentration of gastric juice was determined by spectrophotometric method in 340 nm. Severity of gastritis was graded using the Sydney Classification and correlated to gastric juice ammonium level.*

Results: *Gastric juice ammonium levels were significantly higher in Helicobater pylori- infected individuals than in those without the infection (3.2 ± 0.3 vs. 1.3 ± 0.2 mmol/l , P<0.05).*

Conclusion: *Determination of gastric juice ammonium level by spectrophotometric technique is a suitable means of diagnosing Helicobater pylori infection.*

Keywords: *Helicobater pylori, gastric juice, ammonium, gastritis.*

Hakim 2006;9(1):34-37.

* نویسنده مسؤول: بابل، خیابان گنج‌افروز، دانشگاه علوم پزشکی بابل، دانشکده پزشکی، بخش بیوشیمی بالینی و بیوفیزیک، تلفن:۳۲۲۲۲۹۰-۰۱۱۱ نمابر:۲۲۲۲۹۹۳۶-۰۱۱۱
پست الکترونیک: dqujeq@hotmail.com

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2026-11-22]

چکیده

مقدمه: *تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری ممکن است با استفاده از اندوسکوپی و یا بدون استفاده از اندوسکوپی صورت گیرد. هریک از این روش‌ها برای تشخیص نهایی وقت زیادی را نیاز دارد. در پژوهش حاضر برای تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری روش مستقیم اندازه‌گیری مقدار آمونیوم شیره معده توسط اسپکتروفتومتری بکار برده شد.*

روش کار: *تعداد ۳۲ نفر بیمار با متوسط سنی ۵/٤ ± ٤۹/۷ سال که برای اندوسکوپی به بیمارستان مراجعه کرده بودند، انتخاب شدند. مقدار ۵ میلی‌لیتر شیره معده برای اندازه‌گیری مقدار آمونیوم شیره معده به روش اسپکتروفتومتری از هر فرد تهیه شد. نمونه کنترل نیز از تعداد ۱۱ نفر مراجعه کننده که برای انجام اندوسکوپی در شرایط سنی همسان با گروه مورد مطالعه با متوسط سنی ۷/۹ ± ٤۵/۸ سال، بدون عفونت به هلیکوباکتر پیلوری بودند، تهیه شد. مقدار آمونیوم شیره معده به روش اسپکتروفتومتر در طول موج ۳٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. شدت آلودگی به هلیکوباکترپیلوری براساس تشخیص آسیب‌شناسی تعیین شد و ارتباط غلظت آمونیوم و شدت آلودگی بررسی گردید.*

یافته‌ها: *یافته‌ها نشان داد شیره معده افرادی که مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری هستند، مقدار آمونیوم (۰/۳ ± ۳/۲ میلی‌مول در لیتر) بیشتری نسبت به افرادی که مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری نمی‌باشند (۰/۲ ± ۱/۳ میلی‌مول در لیتر) دارد.*

نتیجه‌گیری: *اندازه‌گیری مقدار آمونیوم در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری با نتایج بررسی ماکروسکوپی، میکروسکوپی و آسیب‌شناسی به عنوان روش استاندارد تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری مطابقت دارد.*

گل‌واژگان: *هلیکوباکترپیلوری، شیره معده، آمونیوم، التهاب معده.*

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری‌که قبلا به عنوان کاپیلوباکتر پیلوری شناخته شده بود، هم‌اکنون به‌عنوان یک باکتری گرم منفی، خمیده، با فعالیت بالای اوره‌آز و به عنوان عامل ایجاد کننده التهاب معده و زخم معده شناسایی شده است (۱). افزایش فعالیت اوره‌آز شیره معده و غلظت آمونیوم در افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به افراد نرمال و بدون عفونت هلیکوباکتر پیلوری توسط محققان گزارش شده است (۲). تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری ممکن است توسط روش‌های تهاجمی (با استفاده از اندوسکوپی) و یا روش‌های غیرتهاجمی (بدون استفاده از اندوسکوپی) انجام شود. روش‌های مکمل اندوسکوپی موجود، روش‌های رنگ‌آمیزی بافت، روش اوره‌آز سریع، واکنش‌های زنجیره‌ای، PCR، Elisa و استفاده از محیط کشت است. بعضی از این روش‌ها برای رسیدن به مرحله تشخیص وقت زیادی می‌گیرند؛ بنابراین یافتن روشی سریع با زمان کمتر برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری مورد نیاز است (۲). چون اوره به داخل لومن معده نفوذ می‌کند، پس می‌تواند به عنوان سوبسترای اوره‌آز وابسته به عفونت هلیکوباکتر پیلوری عمل کند. لذا اندازه‌گیری اوره شیره معده نیز به عنوان روش تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری و زخم معده استفاده شده است (۳). در عفونت هلیکوباکتر پیلوری فعالیت اوره‌آز بالا است و آنزیم اوره‌آز در حضور اوره سبب بقای هلیکوباکتر پیلوری در pH اسیدی می‌شود (۴). روش ایمونواسی آنزیمی برای تشخیص آنتی‌ژن ویژه هلیکوباکتر پیلوری در مدفوع ارایه شد. این روش، حساسیت روش‌های دیگر را برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری ندارد (۵). عفونت هلیکوباکتر پیلوری در پاتوژنز التهاب معده و ایجاد زخم معده نقش دارد. این خصوصیات شامل قدرت چسبندگی به لایه اپی‌تلیال معده، تولید پروتئازهای قادر به تجزیه گلیکوپروتئین‌ها و تولید سیتوتوکسین‌ها است (۶). عفونت هلیکوباکتر پیلوری فعالیت اوره‌آز را دارند و فعالیت اوره‌آز سبب هیدرولیز اوره به دی‌اکسیدکربن و آمونیاک می‌شود و نقش مهمی در توانایی عفونت هلیکوباکتر پیلوری برای کلنی‌زاسیون و آسیب موکوس معده دارد (۶ و۷). در طی تجزیه اوره به دی‌اکسیدکربن و آمونیاک، مقدار یون هیدروژن موکوس افزایش می‌یابد و از انتقال طبیعی یون هیدروژن از غدد معده به لومن معده جلوگیری

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2026-11-22]

می‌کند و نفوذ برگشت‌پذیر یون‌های هیدروژن را تحریک می‌نماید. هدف ما در این تحقیق اندازه‌گیری آمونیوم شیره معده برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری و ارتباط تغییرات غلظت آن با شدت آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری است.

روش‌کار

تهیه نمونه: در طی اندوسکوپی مقدار ۵ میلی‌لیتر شیره معده از کف معده آسپیره و توسط سه راهی که برای این منظور طراحی شده بود، نمونه شیره معده در مدت زمان ۵ دقیقه تهیه گردید. سپس به لوله‌های آزمایش استریل انتقال داده شد. شیره معده تهیه شده، در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی برداشته شد و موکوس و ذرات باقی‌مانده جدا گردید. پس از آن ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲ میلی‌لیتر از بافر تریس با pH برابر با ۷/۲ و غلظت ۰/۱ مولار رقیق شد و تا انجام مراحل بعدی آزمایش در فریزر ذخیره شد. مقدار ۵ میلی‌لیتر نمونه خون از هر بیمار برای انجام اوره‌آز تهیه شد. پس از آن گزارش اندوسکوپی قسمت فوقانی دستگاه گوارش از نظر نتیجه رادیوگرافی و تشخیص اندوسکوپی بررسی گردید. پس از تشخیص اندوسکوپی و آزمایشگاهی عفونت به باکتری، نمونه بیوپسی برای بررسی آسیب‌شناسی تهیه گردید و جهت بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی به بخش آسیب‌شناسی بیمارستان شهید بهشتی ارسال شد. نتایج نمونه ارسالی از هر فرد به بخش آسیب‌شناسی از نظرگزارش ماکروسکوپی، میکروسکوپی، تشخیص و گزارش آندوسکوپی پیگیری شد و با نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی، اندازه‌گیری مقدار آمونیوم شیره معده، اوره سرم و شیره معده هر فرد مقایسه گردید. درگزارش اندوسکوپی قسمت فوقانی دستگاه گوارش هر فرد، علت مراجعه، نوع اندوسکوپی، نتیجه رادیوگرافی، تشخیص اندوسکوپی، تشخیص آسیب‌شناسی و نوع داروی مصرفی مورد نظر بود. بر اساس بررسی‌های میکروسکوپی حضور هلیکوباکتر پیلوری، تعداد نوتروفیل و سلول‌های منونوکلئور و بر اساس روش سیستم سیدنی، نتایج شدت التهاب معده به‌صورت طبیعی، ضعیف، متوسط و شدید تعیین شد.

اندازه‌گیری مقدار آمونیوم شیره معده بر اساس روش موکولو و همکارانش (۲)، همچنین عباس و همکارانش (۸) انجام شد.

روش آماری: نتایج اندازه‌گیری‌ها بر حسب Mean ± SD ارایه شدند. برای مقایسه نتایج دو گروه با عفونت هلیکوباکترپیلوری و بدون عفونت با هلیکوباکتر پیلوری از روش Student t-test استفاده شد. برای قابل توجه بودن اختلاف نتایج بدست آمده P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای بررسی رابطه شدت عفونت هلیکوباکتر پیلوری و میزان آمونیوم شیره معده از آنالیز رگرسیون استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج ما نشان داد مبتلایان به عفونت هلیکوباکتر پیلوری مقدار غلظت آمونیوم شیره معده (۰/۳ ± ۳/۲ میلی‌مول در لیتر) بیشتری نسبت به افرادی که مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری نمی‌باشند (۰/۲ ± ۱/۳میلی‌مول در لیتر) دارند (P<۰/۰۵). در قسمت میکروسکوپی گزارش آسیب‌شناسی، در بررسی ریزبینی با توجه به هر نمونه، مواردی مانند ساختمان قطعاتی از مخاط همراه با ارتشاح (خفیف، متوسط و یا شدید) لنفوپلاسماسل، (بدون نوتروفیل، یک نوتروفیل و یا تعدادی نوتروفیل) و یا تشکیل یک یا چند فولیکول لنفاوی و ائوزینوفیل مشاهده شد. در رنگ‌آمیزی گیمسای مدیفیه، در شرایط عدم ابتلا به هلیکوباکتر پیلوری، منفی و در شرایط ابتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری اگر یک باکتری خمیده یا چند باکتری خمیده دیده شد، مثبت بود.

در قسمت تشخیص آسیب‌شناسی: بدون عفونت به هلیکوباکتر پیلوری؛ التهاب مزمن معده با فعالیت ضعیف و عفونت با هلیکوباکتر؛ التهاب معده با فعالیت متوسط و عفونت با هلیکوباکتر پیلوری شدید بود. مقدار آمونیوم در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری با نتایج بررسی ماکروسکوپی، میکروسکوپی آسیب‌شناسی به عنوان روش استاندارد تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری مطابقت داشت. همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است بین مقدار آمونیوم شیره معده و شدت آلودگی به هلیکوباکترپیلوری رابطه مثبت و خطی (r=۰/۷۴) وجود دارد و مقدار P-Value کمتر از ۰/۰۵ است.

جدول ۱- رابطه بین شدت آلودگی به هلیکوباکترپیلوری و مقدار آمونیوم شیره معده

تعداد بیماران(نفر)	شدت آلودگی به هلیکوباکترپیلوری	مقدار آمونیوم شیره معده (میلی‌مول در لیتر)*
۱۱	کنترل	۱/۳۰ ± ۰/۲
۸	عفونت ضعیف	۱/۴۱ ± ۰/۲
۱۰	عفونت متوسط	۱/۹۸ ± ۰/۳
۱۴	عفونت شدید	۳/۲۰ ± ۰/۳

* مقادیر اندازه‌گیری‌ها بر حسب Mean±SD ارایه شده است

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2026-11-22]

بحث

در پژوهش حاضر نشان داده شده است که غلظت آمونیوم شیره معده در افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به افراد غیرمبتلا بیشتر است و این یافته‌ها با گزارش سایر محققان منطبق است (۷). غلظت بالای آمونیوم شیره معده در افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری به دلیل فعالیت اوره‌آز مرتبط به باکتری است. این یافته‌ها با گزارش موکولو و همکارانش که مقدار غلظت آمونیوم در شیره معده افراد با عفونت هلیکوباکتر پیلوری مثبت هستند، بالا (مقدار ۶/۵۹ میلی‌مول در لیتر) و در افرادی که به عفونت هلیکوباکتر پیلوری منفی هستند، پایین گزارش شده (۱/۶ میلی‌مول در لیتر) منطبق و قابل مقایسه است؛ اما مقدار غلظت آمونیوم اندازه‌گیری در پژوهش حاضر در هر گروه در مقایسه با گزارش موکولو و همکارانش پایین‌تر بود. این اختلاف نتایج می‌تواند به دلیل تفاوت نمونه‌های تهیه شده، شیوه نمونه‌گیری، تهیه آن و سن بیماران باشد (۲). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بین مقدار آمونیوم شیره معده و شدت آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری رابطه مثبت وجود دارد. رابطه مثبت بین غلظت آمونیوم شیره معده و علایم شدت آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری و نتایج بررسی‌های میکروسکوپی و ماکروسکوپی آسیب‌شناسی هریک از نمونه‌ها براساس حضور و عدم حضور باکتری هلیکوباکتر پیلوری، لنفوپلاسماسل، بدون نوتروفیل، یک نوتروفیل، تعدادی نوتروفیل، تشکیل یک یا چند فولیکول لنفاوی و ائوزینوفیل نشان می‌دهد که بین غلظت آمونیوم شیره معده و تشخیص عفونت هلکوباکتر پیلوری توسط روش آسیب‌شناسی مطابقت دارد. همچنین افزایش مقدار آمونیوم شیره معده با شدت التهاب معده از طریق آنالیز رگرسیون به‌صورت خطی و مثبت نشان می‌دهد که آمونیوم حاصل از فعالیت اوره‌آز باکتری هلیکوباکتر پیلوری در پاتوژنز التهاب معده نقش دارد. نتایج آنالیز آمونیوم شیره معده برای بررسی عفونت هلیکوباکتر پیلوری با نتایج اندوسکوپی و آسیب‌شناسی آن منطبق است.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر مشخص گردید که تغییرات مقدار آمونیوم در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری با نتایج بررسی ماکروسکوپی، میکروسکوپی و آسیب‌شناسی به عنوان روش استاندارد تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری مطابقت دارد و روش اندازه‌گیری آمونیوم شیره معده برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری روش مناسبی است.

References

1- Dunn BE, Campbell GP, Perez-Perez GI, et al. Purification and characterization of urease from helicobacter pylori. J Biol Chem 1990; 265(16):9464-9.
2-. Mokuolu AO, Sigal SH, Lieber CS. Gastric juice urease activity as a diagnostic test for helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol 1997; 92(4):644-8.
3-. Kearney DJ, Ritchie K, Peacock JS. Gastric-juice ammonia assay for diagnosis of helicobacter pylori infection and the relationship of ammonia concentration gastritis severity.Am J Gastroenterol 2000;95(12):3499-503.
4- Dasani BM, Sigal SH, Lieber CS. Analysis of risk factor for chronic hepatic encephalopathy: The role of helicobacter pylori infection. Am J Gastroenterol 1998; 93(5):726-31.
5- Yang L, Eshraghi J, Fassihi R. A new intragastric delivery system for the treatment of helicobacter pylori associated gastric ulcer, in vitro evaluation. J Controlled Release 1999;57:215-22.
6- Ishihara T, Takada T, Shoji Y, et al. Hyperammonemia reducees water immersion restraint stress gastric ulcers in rats. Gen Pharmacol 1998; 31(1):87-91.
7- LockeIII GR, Talley NJ, Nelson DK, et al. Helicobacter pylori and dyspepsia. Am J Gastroenterol 2000; 95(8):1906-2145.
8- Abass AK, Hart JP, Cowell DC, et al. Development of an amperometric assay for NH4 based on a chemically modified screen-printed NADH sensor. Anal Chim Acta 1998; 373:1-8.

[Downloaded from hakim.tums.ac.ir on 2026-11-22]