# شیوع IgG علیه هلیکوباکتر پیلوری در دانشجویان ورودی سال ۱۳۸۱ دانشگاه تهران

دکتر امیرحسین سبزپوشان
پزشک عمومی

دکتر الهه هوده(دکترای علوم آزمایشگاهی)
دکتر عطیه اعظمی(دکترای علوم آزمایشگاهی)
دکتر فریده سیاوشی (دکترای میکروبیولوژی)
دکتر صادق مسرت(فوق تخصص گوارش وکبد)

**خلاصه**

۳۰۰ نفر دانشجوی ورودی پاییز سال۱۳۸۱ دانشگاه تهران،از نظر سطح آنتی‌بادی علیه هلیکوباکتر پیلوری مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه IgG علیه هلیکوباکتر پیلوری با روش الیزا اندازه‌گیری شد. مقدار ۱۰۰µl بافر حاوی ۰/۷۵µg/ml آنتی‌ژن خرد شده باکتری، که توسط امواج صوتی از باکتریهای جدا شده از بیماران بیمارستان شریعتی به دست آمده بود، در پلیت الایزا چسبانیده شد و رقت $\frac{1}{200}$ سرم دانشجویان ، وارد واکنش گردید. تعداد۲۷۹ دانشجو واکنش مثبت نشان دادند. بدین ترتیب میزان شیوع آلودگی در این جمعیت معادل۹۳ درصد می باشد.

**Abstract**

ELISA analyzed 300 students accepted for the autumn term of 2002 for Tehran university, for the presence of IgG anti-H. Pylori antibody. Plates were coated with 100 µl of 2 Mg/ µl concentration of sonicated antigen. The sonicated antigen was prepared from cultured bacterium, which was isolated from Iranina patients from Shariati hospital from Tehran University of Medical Sciences. Of these students 279 were positive. This indicates that the prevalence of anti H. pylori antibody in this population is93٪.

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی و میکروآئروفیل می‌باشد که در حالت فعال به شکل مارپیچ و در حالت غیرفعال یا مرده به صورت کوکوئید است (۱). آلودگی با این باکتری یک عفونت مزمن با طیف گسترده‌ای از علائم بالینی از یک آلودگی بدون علامت تا بیماریهای بسیار شدید مثل زخم‌های گوارشی و حتی سرطان معده ایجاد می‌کند (۲). علاوه بر مشکلات گوارشی دخالت آن در بیماریهای خارج از دستگاه گوارش مثل بیماریهای قلبی ـ عروقی، پوستی، آرتریت، کم‌خونی ، فقر آهن، کمبود اسید فولیک و ترومبوسیتوپنی پورپورا نیز مطرح شده است که هنوز به اثبات نرسیده است (۳).

آلودگی به این باکتری گسترش جهانی دارد و شایع‌ترین بیماری باکتریایی معدی ـ روده‌ای در دنیا است (۴). آلودگی معمولا در دوران کودکی و قبل از بلوغ رخ می‌دهد و میزان احتمال ابتلا با افزایش سن کاهش می‌یابد. میزان شیوع با مسئله بهداشت محیطی و اجتماعی افراد ارتباط نزدیک دارد (۵).

شیوع آلودگی در افراد بالغ در کشورهای در حال توسعه حدود ۹۰-۸۰ درصد است در حالیکه این آمار در کشورهای توسعه یافته کمتر و در حدود ۶۰-۵۰ درصد می‌باشد. نکته قابل توجه در اپیدمیولوژی هلیکوباکتر پدیده هم گروهی در یک نسل است Birth cohort related phenomenon بدین معنی، که شیوع آلودگی می‌تواند در افراد یک نسل با نسل دیگر تفاوت داشته باشد و به نوعی نشانگر وضعیت بهداشتی در دوران کودکی و نوجوانی هر گروه باشد (۶).

با توجه به شیوع بالای این باکتری و ایجاد بیماریهای مهم دستگاه گوارشی بررسی اپیدمیولوژی و داشتن اطلاعات آماری از وضعیت موجود در کشور ضروری به نظر می‌رسد. در این مطالعه به منظور بررسی وضعیت آلودگی نسل جوان در ایران به عنوان یک شاخص بهداشتی از یک طرف و از طرفی شناسایی افراد در خطر و درمان به موقع،

**آلودگی به هلیکو باکتر پیلوری گسترش جهانی دارد و شایع‌ترین بیماری باکتریایی معدی ـ روده‌ای در دنیا است.**

**آلودگی**

**باهلیکوباکترپیلوری یک عفونت مزمن با طیف گسترده‌ای از علائم بالینی از یک آلودگی بدون علامت تا بیماریهای بسیار شدید مثل زخم‌های گوارشی و حتی سرطان معده ایجاد می‌کند.**

آزمایش سرولوژی برای تعیین IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری بر روی سرم دانشجویان ورودی سال ۱۳۸۱ دانشگاه تهران با استفاده از کیت استاندارد شده داخلی در بخش ایمونولوژی دانشکده بهداشت و با همکاری مرکز بهداشت و درمان دانشجویان دانشگاه تهران انجام شد.

## روش کار

### ۱- جمع‌آوری نمونه

از ۳۰۰ دانشجوی ورودی سال ۱۳۸۱ دانشگاه تهران که به طور متوالی برای معاینات بالینی اولیه به مرکز بهداشت دانشگاه تهران مراجعه کرده بودند پس از پر کردن پرسش نامه و رضایت نامه جهت شرکت در این طرح حدود ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد و سرم تهیه شده تا زمان آزمایش در فریزر $-۷۰^{o}C$ نگهداری شد.

### ۲- انجام آزمایش الیزا

این آزمایش طبق روش دکتر صراف‌نژاد و همکاران انجام شد(۷).

**۲-۱. تهیه آنتی‌ژن:** مایع رویی حاصل از سونیکاسیون ۵ سویه باکتری جدا شده از بیماران ایرانی به عنوان آنتی‌ژن استفاده گردید.

**۲-۲. مرحله پوشانیدن(Coating):** غلظت مناسب آنتی‌ژن (۰/۷۵micg/ml) در بافر پوشاننده (کربنات/ بی‌کربنات) تهیه کرده و سپس ۱۰۰میکرولیتر از آن در هر چاهک ریخته و سپس پلیت در طول شب در ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داد شد.

**۲-۳. مرحله مسدود کردن(Blocking):** در این مرحله به منظور جلوگیری از واکنش‌های غیر اختصاصی از ۲۰۰ میکرولیتر بافر مسدودکننده(PBS+1% BSA+0.5%tween 20) استفاده شد.

**۲-۴. مرحله افزودن سرم:** از سرم رقت $\frac{1}{200}$ در محلول رقیق کننده تهیه نموده و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن در چاهک ها ریخته و به مدت یک ساعت در $۳۷^{o}C$ قرار داده شد.

**۵-۲. مرحله افزودن کونژوگه:** رقت $\frac{1}{2000}$ از سرم کونژوکه (Anti IgG-HRP DAKo code No. Po214) در محلول رقیق کننده تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از آن در چاهک ها ریخته و سپس به مدت یک ساعت در $37^{o}C$ قرار داده شد.

**۶-۲. مرحله رنگ زایی:** ۱۰۰ میکرولیتر از محلول سوبسترا ـ رنگ‌زا (بافر سیترات/ فسفات+OPD+$H_2O_2$) به هر یک از چاهک ها افزوده و پس از گذشت ۱۵دقیقه در دمای اتاق ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده( $H_2SO_4$ 1M)به آن اضافه شد.

**۷-۲. مرحله خوانش :** جذب نوری پلیت‌ها در طول موج۴۹۲ با دستگاه ELISA Reader Stat Fax2100 به دست آمد و در مقایسه با Cut off ،مثبت یا منفی بودن هر نمونه مشخص شد.

لازم به ذکر است که در بین هر مرحله شش بار شستشو با محلول شستشو (PBS+0.05٪twean20) انجام شد.

## نتایج

نتایج بر اساس مقایسه با خط مرزی (cut off) محاسبه شده با استفاده از منحنی ROC( OD 0.75)به دست آمد که در این نقطه حساسیت، ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی این روش به ترتیب ۹۳/۲، ۹۵/۴، ۹۹/۳و ۷/۶۷ درصد می‌باشد.

نتایج به دست آمده شامل۲۷۹ مورد مثبت و۲۱مورد منفی می‌باشد.

## بحث

هلیکوباکتر پیلوری دومین عفونت باکتریایی شایع در جهان بعد از استرپتوکوکوس موتانس عامل پوسیدگی دندان می‌باشد (۸). و در حدود ۵۰٪ افراد در کشورهای توسعه یافته و ۹۰-۸۰٪ افراد در کشورهای در حال توسعه به این باکتری آلوده می‌باشند. در اغلب موارد ابتلا به عفونت در دوران کودکی و قبل از بلوغ رخ می‌دهد. اما به نظر می‌رسد زمان اکتساب عفونت یکی از عوامل مؤثر در چگونگی پیشرفت بعدی بیماری باشد. یعنی هر چه ابتلا در سنین پایین‌تر رخ دهد بیشتر بیمار به سمت گاستریت آتروفی مزمن و ابتلا در سنین بالاتر بیشتر به طرف زخم های دئودنال پیش می‌روند (اگر چه عوامل بسیار مربوط به سویه‌های باکتری و ژنتیک خود افراد نیز در این زمینه مؤثر باشند) (۴).

هلیکوباکتر پیلوری به عنوان یک پاتوژن انسانی پذیرفته شده است و در حقیقت خود انسان مخزن طبیعی هلیکوباکتر پیلوری محسوب می‌شود (۲ و ۵). مهم ترین راه انتقال آن به نظر انتقال فرد به فرد هم از طریق انتقال مدفوعی ـ دهانی و هم انتقال دهانی ـ دهانی می‌باشد (۵). هم چنین در برخی از کشورها امکان انتقال از طریق آب و غذای آلوده نیز مطرح است (۹). به خصوص با تحقیقاتی که بر روی فرم کوکوئید این باکتری انجام شده است و نشان داده شده که این فرم باکتری می‌تواند تا ماه ها در آب به صورت غیرفعال زنده بماند (۱۰)، احتمال انتقال از این طریق را تأیید می‌کند.

با توجه به راه های انتقال، بررسی اپیدمیولوژی و تعیین شیوع باکتری در یک جامعه می‌تواند تا حدی نمایان گر وضعیت بهداشتی آن جامعه باشد (۱۱). بخصوص با استفاده از پدیده هم گروهی در یک نسل می‌تواند روند بهبود بهداشت را مشاهده کرد. به طوریکه در کشورهای در حال توسعه که پیشرفت‌های صنعتی و اقتصادی ـ اجتماعی داشته و وضعیت بهداشت آنها بهبود یافته است میزان عفونت در نسل‌های جوان تر کمتر از نسل‌های قدیمی‌تر آن کشورها می‌باشد (۶).

در ایران یک مطالعه وسیع اپیدمیولوژی در سال۱۹۹۱ توسط دکتر مسرت و همکاران در شیراز گزارش شده است که در آن آلودگی افرادمذکر،در گروه عشایر و کارکنان یک کارخانه صنعتی بررسی شد ومیزان آلودگی به ترتیب ۸۸/۴ و۹۳ درصد به دست آمد (۲۱).

با توجه به مطالب فوق تحقیق وسیع سرواپیدمیولوژی بر روی ۳۰۰۰ نفر از دانشجویان دانشگاه تهران آغاز شده است که مقاله فعلی نتایج به دست آمده از بررسی ۳۰۰ نفر از این دانشجویان می‌باشد. این گروه دانشجویان ورودی سال ۱۳۸۱ این دانشگاه با میانگین سنی ۱۹ سال می‌باشند.

همچنین در این مطالعه با کیت استاندارد شده با شرایط ایران و استفاده از سویه‌های ایرانی هلیکوباکتر پیلوری، ویژگی و حساسیت آن با شرایط اقلیمی کشور تعیین شده است.

با مقایسه احتمالی بین این دو مطالعه، مشاهده می‌شود که در فاصله این دو نسل هنوز هیچ تیتر معنی‌داری در میزان آلودگی رخ نداده است و میزان آلودگی در نسل جوان هنوز نیز بالاست که

این توجه بیشـــتری را به مسائل بهداشتی می‌طلبد. از طرفی در این طرح می‌توان افـراد علامت دار و در معرض خطر برای بیماری های شـــدید حاصل از این باکتری را شناسایی و از پیشرفت بیماری آنها جلوگیری نمود.

نتایج کامل در آینده نزدیک منتشـــر خواهد شد. جای آن دارد که در ادامه بررســـی شیوع بیماری در سنین پایین‌تر نیز مطالعات وسیعی انجام گیرد تا براســـاس آن مسئولان برنامه‌ریزی برای پیشگیری و درمان این باکتری را در برنامه کاری خود قرار دهند.

## References:


1-Luigina C. and et al "H. pylori: A Fickle Germ" Microbiol. Immunol.1994;38(1):25-30.

2-Graham D.Y. and Malaty H.M. "Commentary: What remains to be done regarding transmission of H.pylori". International Epidemiol.2002;31: 646-647.

3-Gasbarrini A. and et al. HELICOBACTER. Volume 8. Supplement1,2003: 68-76

4-Malfertheiner P. and et al. "H. pylori: An Atlas". London. Science press. 1996.

5-Bardhan P.K. "Epidemiological features of H. pylori infection developing countries". Clin. Infect. Dis. 1992; 25: 973-8.

6-Sippone, P. "H. pylori Gastritis-Epidemiology". J. Gastroenterol.1997;32: 373-7

۷ - دکتـر صراف‌نـژاد و همـکاران، راه‌انـدازی و اسـتاندارد کـردن روش **ELISA** در تشـخیص عفونـت هلیکوباکتـر پیلـوری، مجلـه دانشـکده پزشـکی ،۱۳۸۰، سـال پنجـاه و نهم، صفحـه ۱۰-۱.

**8-Telford. "Immunobiology of H. pylori infection" Curr. Opin. Immunol. 1997. 9(4): 498-503.**

**9-Brown L. M and et al. "H. pylori infectionin rural china: demographic, lifestyle and environmental factors" Inter. J. Epidem. 2002: 31: 638-646.**

**10-Nourai-Ahari F. and et al. "The viability of H.pylori in the water environments" Gastroenterol. 1996;110(4).**

**11-Malaty H. M. and Nyrem O. "Epidemiology of H.pylori infection" Helicobacter 2003;8(Supp.1): 8-12.**

**12-Masserat S. and et al "prevalence of H. pylori infection in two different male population in Iran and its associated factors'. Am. J. Gastoenterol. 1994;89:1308.**


**قابل توجه خوانندگان محترم نشریه:**

**برای ارسال مقالات،فرم اشتراک،نامه و هرگونه مکاتبات دیگر با نشریه تشخیص آزمایشگاهی، لطفا با صندوق پستی ۱۴۳۳۵/۱۴۱۸ مکاتبه فرمایید.**