

بررسی امکان بهره‌گیری از بیورزونانس در سنجش آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری در موش نژاد C57BL/6 در مقایسه با روش هیستوپاتولوژیک

• سیده نسیم حسینی آهار

گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

• شهاب‌الدین صافی (نویسنده مسئول)

گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

• محمد نصراله‌زاده ماسوله

گروه علوم بالینی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱-۰۷-۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱-۰۹-۱۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱-۰۹-۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲-۰۷-۰۱

Email: s.safi@srbiau.ac.ir



چکیده

عفونت هلیکوباکتر پیلوری شایع‌ترین بیماری معده در سراسر دنیا است. روش‌های تشخیصی تهاجمی و غیرتهاجمی مختلفی جهت تشخیص این باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرد که با محدودیت‌هایی همراه هستند. پژوهش حاضر به منظور ارزیابی کارایی روش بیورزونانس در مقایسه با روش تشخیصی آسیب‌شناسی بافتی، در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در نمونه موش‌های آلوده تجربی انجام شد. ۱۰۰ سر موش نژاد SPF نژاد C57BL/6 وارد مطالعه شده و به دو گروه شاهد و تیمار تقسیم شدند. موش‌های گروه تیمار پس از دریافت ۰٫۲ میلی‌لیتر NaHCO_3 ۲٪ مولار (مرک، آلمان) برای خنثی کردن اسیدیت معده، با ۱۰۹ واحد پرگنه مخلوط هلیکوباکتر پیلوری (ATCC 43504) با PBS به صورت داخل معدی تلقیح شدند. موش‌ها تا ۲۸ روز نگهداری شدند و در روزهای ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ با استفاده از هر دو روش مورد بررسی قرار گرفتند. بیورزونانس توانست هلیکوباکتر پیلوری را در روز صفر با حساسیت ۶۰٪ در موش‌ها تشخیص دهد. در روز هفتم، آسیب‌شناسی بافت در ۲۰ درصد موش‌ها، هلیکوباکتر پیلوری را تشخیص داد. بیورزونانس تمامی موش‌های آلوده را از روز ۷ تا ۲۸ (۱۰۰٪) شناسایی کرده و آسیب‌شناسی بافت همه موش‌های آلوده را فقط در روز ۲۸ شناسایی کرد. تفاوت‌های آماری معنی‌داری بین دو روش تشخیصی در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ آزمایش مشاهده شد ($P < 0.05$) مشخص شد که روش بیورزونانس نسبت به روش تشخیصی آسیب‌شناسی، دارای حساسیت و ویژگی بالاتری بوده و ممکن است مولفه‌های معیار طلایی را در آزمون‌های غربالگری و تشخیص هلیکوباکتر پیلوری ارائه دهد.

کلمات کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، موش نژاد C57BL/6، بیورزونانس، آسیب‌شناسی بافت، SMF.

• Veterinary Researches & Biological Products No 140 pp: 36-43

Investigating the possibility of using the bioresonance assay for detecting *Helicobacter pylori* infection in experimentally infected C57BL/6 mice model, compared with histopathological examination

By: Hosseini Ahar, S. N., Department of Pathobiology, Science and Research Branch, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Safi, S., (Corresponding Author) Department of Pathobiology, Science and Research Branch, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tehran, Iran. and Nasrollahzadeh Masouleh, M., Department of Clinical Sciences, Science and Research Branch, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 2022-09-28 Accepted: 2022-12-04

Revised: 2022-11-26 Published: 2023-09-23

Email: s.safi@srbiau.ac.ir

Helicobacter pylori infection is the most common stomach disease worldwide. Various invasive and non-invasive diagnostic methods are used to detect this bacterium, associated with limitations. The present study was conducted to evaluate the efficiency of the resonance method and the use of specific modulation frequency (SMF) compared with the histopathology diagnostic method to detect *Helicobacter pylori* in gastric biopsy samples of experimentally infected mice. One hundred healthy male C57BL/6 mice were included in the study and divided into the control and treatment groups. Mice of the treatment group were inoculated intragastrically with 10⁹ colony-forming units of *H. pylori* (ATCC 43504) mixture or PBS after treatment with 0.2 ml of 0.2 M NaHCO₃ (Merck, Germany) to neutralize gastric acidity. Mice were kept up to 28 days and examined on days 0, 7, 14, 21, and 28 using Histopathology and SMF. On day 0, only SMF could detect the *H. pylori* in the stomach of 60% of mice. On day 7, histopathology could detect *H. pylori* in 20% of mice. SMF detected all infected mice from days 7 to 28 (100%). Histopathology detected all infected mice only on day 28. Statistically significant differences were found between the two diagnostic methods on days 0, 7, 14, and 21 of the experiment ($P < 0.05$). SMF was found to have high sensitivity and specificity for *H. pylori* detection in all stages of infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, C57BL/6 mice, Bioresonance, Specific modulation frequency, Histopathology.

دوران بارداری و.. گزارش شده است (۷،۳). بنابراین با تشخیص این باکتری در این نوع عفونت‌ها و بیماری‌ها می‌توان به راحتی اقدام به درمان با کمک پادزی‌ها نمود.

روش‌های تشخیصی تهاجمی و غیرتهاجمی مختلفی جهت تشخیص این باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

روش‌های تشخیص بیماری‌های میکروبی طی سال‌ها پیشرفت‌های قابل توجهی داشته، اما با این وجود نتوانسته موفقیت لازم را در تشخیص سریع از نظر زمانی و دقت لازم آورده کرده و همیشه احتمال خطا وجود دارد. جامعه پزشکی برای درمان و واکسیناسیون هلیکوباکتر پیلوری به طور هم زمان تلاش کرده است. درمان انتخابی و غربالگری دقیق جمعیت هدف، همچنان یک چالش بزرگ برای سازمان‌های بهداشتی است. علاوه بر این، واکسن‌های زیادی برای این منظور ساخته شده است که از این بیماری جلوگیری می‌کند، اما هیچ کدام مجوز استفاده از سازمان‌های مربوطه را ندارند (۴). بنابراین، تشخیص سریع عفونت هلیکوباکتر پیلوری رویکرد عملی برای جلوگیری از گسترش بیماری در جمعیت انسانی است. چندین مطالعه بالینی انجام شده که در آنها نشان داده شده استفاده از درجات میدان‌های الکترومغناطیسی تعدیل‌شده می‌تواند ویژگی‌های تشخیصی و درمانی داشته باشد (۱). اگرچه اثرات مثبت میدان‌های الکتریکی و الکترومغناطیسی مختلف بر علوم پزشکی آشکار است (۲۰)، در سال‌های اخیر با پیشرفت علوم سخت‌افزاری و

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری باسیلی شکل، گرم منفی، بدون هاگ، متحرک به عرض ۱/۵-۰/۹ میکرومتر و به طول ۳ میکرومتر است که بیشتر به شکل مارپیچ‌های کوتاه و یا به شکل اس (S) دیده می‌شود که البته این شکل‌ها در محیط‌های کشت جامد کمتر و در محیط‌های کشت مایع بهتر دیده می‌شوند که باعث آسان‌تر شدن حرکت باکتری در لایه چسبناک مخاط معده می‌شود. همچنین دارای ۴ تا ۷ تاژک است که به صورت یک دسته در یک قطب باکتری قرار می‌گیرند و در شرایط کم هوادوست (microaerophilic) زندگی می‌کنند.

سطح مخاط معده اصلی‌ترین محل زندگی هلیکوباکتر پیلوری است. این باکتری قدرت سازگاری بسیار بالا داشته و می‌تواند پیوسته در محیط نامساعد معده با وجود واکنش‌های ایمنی یاخته‌ای و مزاجی (humoral) زنده بماند (۱۰). هلیکوباکتر پیلوری در انسان منجر به طیف وسیعی از بیماری‌های گوارشی از جمله آدنوکارسینوم معده، التهاب معده نوع B، زخم دوازدهه، (۲) لنفوم (MALT (mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma) و لنفوم یاخته B معده (۲۳)، زخم گوارشی معده، برگشت معده-مری، (۲۲، ۱۸)، بدگواری و... می‌شود. همچنین عفونت با هلیکو باکتر پیلوری در ارتباط با بیماری‌های غیرگوارشی مانند بیماری‌های عروق مغزی و سرخرگ کرونری قلب، فشار خون بالا، سردردهای میگرنی، کهیر مزمن، استفراغ

نیز از پایه محیط کشت و مکمل پادزی شامل: تری متو پریم (1 mg.L^{-1})، آمفوترپسین ($2/5 \text{ mg.L}^{-1}$) و ونکومایسین (10 mg.L^{-1}) (Sigma)، و همچنین ۵۰ میلی‌لیتر زرده تخم‌مرغ صاف شده، استفاده شد. پلیت‌های سترون تا هنگام مصرف و بیشینه به مدت دو هفته در داخل کیسه‌های پلاستیکی در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۱).

تیمار تلقیح باکتری به موش‌ها

سوش‌های باکتری از محیط کشت به فسفات بافر سالین استریل PBS با pH ۷/۴ منتقل و با چگالی یکسان مخلوط شدند. تمامی موش‌های گروه آزمایش در طول شب شرایط پرهیز غذایی و دسترسی آزاد به آب را داشتند. موش‌های این گروه با $0/2$ میلی‌لیتر NaHCO_3 ۰/۲ مولار (Merck، آلمان) برای خنثی‌کردن اسیدیته معده تحت درمان قرار گرفتند. سپس 10^9 CFU ترکیبی از هلیکوباکتر و PBS از طریق لوله‌های پلی‌اتیلن به درون معده ۵۰ موش (گروه آزمایش) تلقیح شد. این کار ۲ بار یا بیشتر در روز و به فاصله هر دو روز تکرار شد و موش‌ها به مدت ۲۸ روز نگهداری شدند. بعد از روزهای ۰، ۲۱، ۱۴، ۷ و ۲۸ از زمان شروع تلقیح باکتری، جهت تشخیص حضور هلیکوباکتر پیلوری از روش‌های بیورزونانس، و آسیب‌شناسی بافتی استفاده شد. در هر روز از آزمایش برای هر موش، ۵ موش انتخاب شد (۱۰ موش در هر روز).

تشخیص هلیکوباکتر پیلوری به کمک بیورزونانس

تمامی موش‌های مورد آزمایش، توسط دستگاه بیورزونانس و دستورالعمل مخصوص شرکت (MINI-EXPERT-DT, Russia) از نظر آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی قرار گرفتند. این دستگاه قطبیت برق درمانی را به صورت موج‌های مثبت، منفی و دوقطبی تعیین می‌کند. برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری، دامنه و بسامد موج به ترتیب روی ۱۲ ولت و ۱۰۰-۱ هرتز تنظیم شد. برای تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار (IMIDIS-EXPERT, Russia) استفاده شد.

تشخیص هلیکوباکتر پیلوری با روش آسیب‌شناسی بافتی

از ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم کنامین جهت بیهوشی استفاده شده و سپس با باز کردن قفسه سینه، معده موش‌ها خارج شد. نمونه بافت برداری شده مخاط معده از تمام قسمت‌های معده گرفته شد و برای مراحل بعدی آزمایش آماده‌سازی شد.

برای سنجش بافت‌شناسی، قطعات با ضخامت ۲ میلی‌متر و بصورت لایه طویلی از بافت معده (در امتداد خم بزرگ معده از مری تا دوازدهه) بریده شد. سپس نمونه‌ها در فرمالین ۱۰٪ (Merck, Germany) تثبیت شد، مراحل گذر بافتی توسط دستگاه اتوتکنیکون انجام شده، در نهایت اسلایدها با رنگ‌های هماتوکسیلین و اتوزین (جهت بررسی شدت التهاب) و گیمسا (بررسی از نظر وجود باکتری) رنگ‌آمیزی شدند، برای بررسی لام‌ها و تهیه تصاویر، از میکروسکوپ نوری مدل (H-Z) / ۳ (Olympus) ساخت کشور ژاپن و فیلم ASA۴۰۰KodaKUHra استفاده گردید. تشخیص تنها در موارد ریخت‌شناسی معمول هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های بافت برداری شده به‌عنوان باسیل‌های S شکل (طول ۲-۴ میکرومتر و ضخامت ۰٫۵-۱ میکرومتر) تأیید شد.

نرم‌افزاری و دانش هوش مصنوعی ابزارهای جدیدی که حاصل پیوند دانش پزشکی و علوم کامپیوتر هستند توانسته امید تازه‌ای برای تشخیص انواع بیماری‌ها ایجاد نماید. استفاده از فناوری بیورزونانس شاید به دلیل درک ضعیف از نحوه عملکرد آن به زمینه‌های خاص، محدود شده است. بیورزونانس توان این را دارد که به عنوان ابزار تشخیصی برای آینده تشخیص و درمان غیر تهاجمی استفاده شود. هدف از این مطالعه بررسی توانایی بالقوه روش بیورزونانس (specific modulation frequency)، در مقایسه با روش مرجع هیستوپاتولوژی می‌باشد.

مواد و روش کار

الگوی حیوانی

در این مطالعه تجربی که بصورت مداخله‌ای انجام گرفته، ۱۰۰ سر موش نر نژاد C57BL/6، سن ۶-۸ هفته و با وزن تقریبی ۲۵-۳۰ گرم از موسسه پاستور ایران تهیه گردید.

ابتدا تمامی موش‌ها از نظر عاری بودن به هلیکوباکتر پیلوری توسط دستگاه بیورزونانس مورد بررسی قرار گرفته و سپس تمامی حیوانات به مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی (pathogen free) منتقل شدند و در قفس‌های استاندارد نگهداری و تحت شرایط نوردی پایش شده ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای ثابت 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

مراحل مطالعه توسط کارگروه اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی علوم و تحقیقات تهران تأیید شد (۱۳۹۸، ۱۸۶. IR. IAU. SRB. REC) و موازین اخلاقی در نگهداری و انجام آزمایش مطابق آن رعایت گردید.

حیوانات قبل از شروع دوره نگهداری و جیره‌دهی به مدت یک هفته، قرنطینه دوره تطابق را گذراندند تا تأثیر منفی تنش ناشی از محیط ناآشنا بر روی نتایج مطالعه‌ی مورد نظر به کمینه برسد. همگی موش‌ها به آب و غذا (pellet) دسترسی آزاد داشتند. سپس موش‌ها به صورت تصادفی به ۲ گروه ۵۰ تایی شاهد و تیمار دسته‌بندی شدند.

سوش باکتری

سوش استاندارد هلیکوباکتر پیلوری (ATCC: ۴۳۵۰۴) از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی (کرج، ایران) تهیه گردید. سوش استاندارد بر روی پلیت‌های بروسلا بلاد آگار غنی شده و کلمبیا آگار غنی‌شده با زرده تخم‌مرغ کشت داده شد. پلیت‌ها در شرایط کم‌هوا دوست با استفاده از سیستم MART (Lichtenvoorde، هلند) (۸۵٪ نیتروژن، ۱۰٪ CO_2 و ۵٪ اکسیژن) سیستم ایجادکننده شرایط بی‌هوازی و نیمه‌هوازی جهت تشخیص و رشد میکروارگانیسم‌های کم‌هوا دوست و بی‌هوا دوست در محیط آزمایشگاهی از طریق خارج کردن اکسیژن محیط و تلقیح گازهای مورد نیاز ارگانیزم با غلظت مورد نیاز) در گرم‌خانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز رشد داده شدند. (۵). محیط کشت بروسلا بلاد آگار غنی شده شامل پایه بلاد آگار و مکمل پادزی شامل: تری متو پریم (30 mg.L^{-1})، سیکلوهاگزامید (100 mg.L^{-1})، ونکومایسین (10 mg.L^{-1}) و نالیدیسیک اسید (30 mg.L^{-1}) (Sigma, St. Louis, Mo, USA) و سرم اسب (۵٪) (شرکت دانش‌بنیان تامین سلامت آتیه البرز، کرج) بود. (۶). برای تهیه محیط کشت کلمبیا آگار غنی‌شده با زرده تخم‌مرغ

۱۴، ۲۱ و ۲۸ آزمایش نشان می‌دهند. در روز صفر، معده از نظر ظاهری بدون علامت و طبیعی مشاهده شد. روز هفتم، معده از نظر ظاهری بدون علامت و طبیعی مشاهده شد و در بررسی ریزینی (میکروسکوپی) کمی التهاب در ناحیه زیرمخاط مشاهده گردید. در روز ۱۴ آسیب سطحی یاخته‌های پوششی مشاهده گردید و در ناحیه زیرمخاط کمی پرخونی مشاهده شد. این آسیب در روز ۲۱ به عمق غدد مخاطی رسیده و یاخته‌های التهابی نیز به صورت منتشر در زیرمخاط غالب بود. در روز ۲۸ مخاط کامل تخریب شده و زخم به صورت تخریب کامل بافت مخاط

تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام گرفت. با توجه به اینکه متغیرها از نوع کیفی بودند، از آزمون مربع کای (Chi-square) استفاده شد. در نهایت $P \text{ value} < 0/05$ به عنوان حد معنی‌داری شناخته شد.

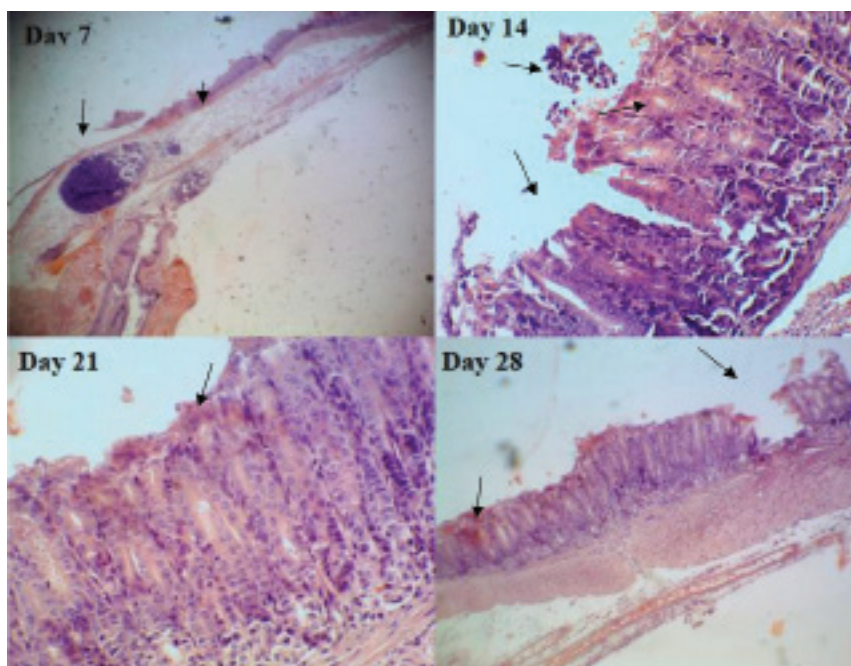
نتایج

نتایج روش آسیب‌شناسی بافت

شکل ۱ و ۲ یافته‌های آسیب‌شناسی بافت گروه تیمار را در روزهای ۷،

جدول ۱- نتایج حاصل از روش آسیب‌شناسی بافت نمونه‌های بافت‌برداری شده در دو گروه تیمار و شاهد.

تیمار هلیکوباکتر		شاهد		روزهای مختلف	روش آسیب‌شناسی
درصد	تعداد	درصد	تعداد		
۰	۰	۰	۰	روز صفر	شناسایی هلیکوباکتر
۴	۱	۰	۰	روز ۷	
۸	۲	۰	۰	روز ۱۴	
۱۲	۳	۰	۰	روز ۲۱	
۲۰	۵	۰	۰	روز ۲۸	
۴۴	۱۱	۰	۰	مجموع	



شکل ۱- یافته‌های آسیب‌شناسی بافتی گروه تیمار در روز ۷ (بزرگنمایی X۴)، روز ۱۴ (بزرگنمایی X۴۰)، روز ۲۱ (بزرگنمایی X۱۰۰) و روز ۲۸ (بزرگنمایی X۱۰۰) (رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).

پیلوری در نمونه‌های مورد بررسی و بافت‌برداری شده معده موش‌های آلوده (گروه درمان) را نشان می‌دهد. هیچ یک از آزمون‌های تشخیصی بررسی شده هلیکوباکتر پیلوری را در موش‌های گروه شاهد شناسایی نکرد. در ابتدای آزمایش، تنها روش بیورزونانس توانست هلیکوباکتر پیلوری را در معده ۳ موش (۶۰ درصد موشها) تشخیص دهد. در روز هفتم آزمایش، آزمایش‌های آسیب‌شناسی بافتی و بیورزونانس توانستند هلیکوباکتر پیلوری را به ترتیب در ۲۰ و ۱۰۰ درصد از نمونه‌های مورد بررسی، تشخیص دهند. بیورزونانس تمام موش‌های آلوده را از روز ۷ تا ۲۸ (۱۰۰٪) شناسایی کرد. اما در روش آسیب‌شناسی بافت تنها در روز ۲۸، آزمایش تمام موش‌های آلوده به هلیکوباکتر پیلوری را شناسایی شد. تفاوت آماری معنی‌داری بین دو روش تشخیصی در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ آزمایش وجود داشت ($P < 0/05$).

در جدول شماره ۴، مقایسه روش بیورزونانس و آسیب‌شناسی بافتی بدون

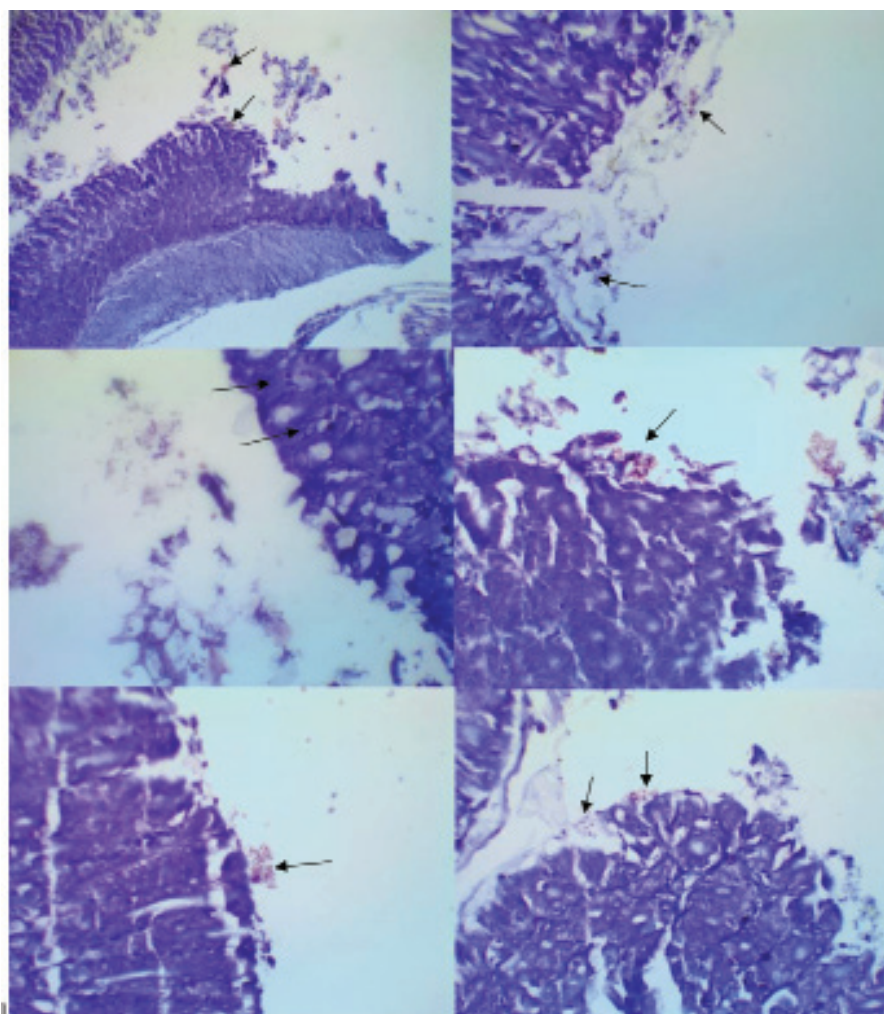
معده همراه با تراوه (اکسودای) فیبرینی همراه با یاخته‌های آماسی فراوان در زیرمخاط مشاهده گردید. جدول ۱ نیز داده‌های حاصل از بررسی نمونه‌ها توسط روش آسیب‌شناسی بافتی در دو گروه تیمار و شاهد را نشان می‌دهد.

نتایج روش بیورزونانس

جدول ۲ یافته‌های SMF را برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های بررسی شده نشان می‌دهد. هلیکوباکتر پیلوری در روزهای مختلف در گروه شاهد ملاحظه نشد، این در حالی بود که ۳ نمونه مثبت در روز صفر و در روزهای بعد در همه ۵ نمونه گروه تیمار با هلیکوباکتر، مثبت تشخیص داده شد.

مقایسه نتایج دو روش تشخیصی

جدول ۳ نتایج دو روش تشخیصی مورد استفاده برای تشخیص هلیکوباکتر



شکل ۲- یافته‌های مثبت عفونت هلیکوباکتر پیلوری (بزرگنمایی ۱۰۰X، ۴X) (رنگ آمیزی گیمسا). پرگنه‌های قرمز (نوکلئوس فلش‌ها) رنگ هلیکوباکتر پیلوری را نشان می‌دهد که به یاخته‌های برون پوش معده چسبیده است.

تشخیص این روش به تعداد و تراکم باکتری‌ها و محل برداشت نمونه بافت برداری بستگی دارد (۱۱) که این یکی از دلایل اصلی کارایی پایین آزمون آسیب‌شناسی بافتی در مطالعه حاضر است. علاوه بر این، وجود باکتری‌های دیگر با ریخت‌شناسی مشابه با هلیکوباکتر پیلوری در معده یکی دیگر از محدودیت‌های مهم روش آسیب‌شناسی بافتی است (۱۶). علاوه بر این، تجویز پادزی‌ها و مهارکننده‌های پمپ پروتون قبل از نمونه برداری، ممکن است شکل هلیکوباکتر پیلوری را به شکل کوکوئید تبدیل کند که تشخیص آن را چالش‌برانگیز می‌کند (۱۵).

بیورزونانس به تازگی برای تشخیص بیماری‌های مختلف توسعه یافته است (۱۴). همچنین این روش برای درمان بیماری‌های مختلف نیز کاربرد دارد (۲۴). با توجه به بسامدهای SMF، می‌توان از آن برای کاربردهای مختلف از طریق تحریک بافت‌های تحریک‌پذیر (مانند قلب، اعصاب و عضلات و...) و تأثیر بر رشد استخوان به ترمیم شکستگی تا ریشه‌کنی تومور با بسامد خاص، استفاده کرد (۱۹). این روش می‌تواند ارتعاش و میدان الکترومغناطیسی ساطع شده از باکتری را تشخیص دهد. در این روش هر طیف میدان، مختص یک کاربرد است، در نتیجه امکان خطا و واکنش متقاطع وجود ندارد.

در دهه گذشته چندین مطالعات بالینی و آزمایشگاهی متعددی انجام شده که قابلیت‌های درمانی و تشخیصی میدان‌های الکتریکی مانند میدان‌های الکتریکی متناوب، بسامد متوسط با شدت کم (۱۰۰-۳۰۰ کیلوهرتز)، و میدان‌های الکترومغناطیسی تعدیل شده (EMF) electromagnetic modulated fields را اثبات کرده است (۸). بر اساس گزارش‌های اخیر (۲۵)، کاربرد بیورزونانس به انواع بیماری‌ها و رویکردهای درمانی یا تشخیصی بستگی دارد. به گفته دیگر، بسامدهای مختلف کاربردهای متنوعی در این روش دارند. همانطور که در مطالعه حاضر گزارش شد، تکنیک SMF بیشترین کارایی را برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در مراحل اولیه آزمایش داشت. خلیفه قلی و همکاران (۱۳) بالاترین حساسیت (۹۵/۶٪) را برای آزمون

در نظر گرفتن زمان، اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد. بطور معنی‌داری (P < ۰/۰۰۰۱) موارد مثبت در روش بیورزونانس بیشتر شناسایی شد.

بحث

هلیکوباکتر پیلوری یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زاهای عفونی در جمعیت انسانی است. در نتیجه تشخیص سریع، ایمن و حساس آن، یک موضوع چالش‌برانگیز در آزمایشگاه است. چندین روش تشخیصی برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری ایجاد شده است. بعضی از این آزمون‌های تشخیصی به مدت زمان طولانی نیاز دارند، بعضی روش‌ها پیچیده‌اند و در برخی موارد پرهزینه هستند. برخی از آنها تهاجمی هستند (آزمایش سریع اوره آز (RUT)، آسیب‌شناسی بافتی، و برخی دیگر غیر تهاجمی‌اند (آزمایش تنفسی اوره آز (UBT)، آزمایش پادگن مدفوع، و برخی آزمایشات سرم‌شناختی و تشخیصی سریع) که بیشتر آنها به دلیل کارایی و دقت پایین محدودیت‌های خاص خود را دارند (۹).

هدف از این مطالعه مقایسه دو روش مختلف برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری شامل: آسیب‌شناسی بافتی (رنگ‌آمیزی گیمسا و هماتوکسیلین - اتوزین) و روش بیورزونانس، در الگوی موش‌های آلوده تجربی بود. یافته‌های این تحقیق توانایی بیشتر روش بیورزونانس را برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در طول آزمایش نشان داد. روش بیورزونانس، ۶۰ درصد از موش‌های آلوده آزمایشی را در روز اول آزمایش شناسایی کرد. در روز ۷ آزمایش، روش بیورزونانس تمام موش‌های آلوده را شناسایی کرد، در حالی که آسیب‌شناسی بافت آسیب‌شناسی بافتی تنها توانست ۲۰ درصد موارد آلوده را شناسایی کند.

بطور خلاصه نتیجه کلی اینکه روش بیورزونانس بطور معنی‌داری بویژه در روزهای اولیه آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری، از روش آسیب‌شناسی بافت حساس‌تر است.

در روش آسیب‌شناسی بافتی با استفاده از روش‌های رنگ‌آمیزی گیمسا و H&E، باکتری‌های مارپیچی عادی در نمونه‌های بافت برداری شده معده، وجود هلیکوباکتر پیلوری را تأیید می‌کنند (۱۱). اگرچه، دقت

جدول ۲- نتایج حاصل از روش بیورزونانس نمونه‌های بررسی شده در دو گروه تیمار و شاهد.

تیمار هلیکوباکتر	شاهد		روزهای مختلف	روش بیورزونانس
	تعداد	درصد		
۱۲	۳	۰	۰	روز صفر
۲۰	۵	۰	۰	روز ۷
۲۰	۵	۰	۰	روز ۱۴
۲۰	۵	۰	۰	روز ۲۱
۲۰	۵	۰	۰	روز ۲۸
۹۲	۲۳	۰	۰	مجموع

را بتوان از این روش در حیطه غربالگری و تشخیص بیماری‌های عفونی استفاده شود. از رو، جهت کاربردی‌تر شدن این تحقیق، مطالعات بیشتری روی سایر عوامل بیماری‌زا در انسان و حیوان، با استفاده از فناوری بیورزونانس پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر و قدردانی خود را از پدر علم بیورزونانس ایران، جناب آقای دکتر حمید رضا طاهری‌پگانه معرفی کننده دانش بیورزونانس در ایران، ابراز می‌دارند.

منابع مورد استفاده

1. Barbault A. Costa FP. Bottger B. Munden RF. Bomholt F. Kušter N, et al. 2009. Amplitude-modulated electromagnetic fields for the treatment of cancer: discovery of tumor-specific frequencies and assessment of a novel therapeutic approach. *J Exp Clin Cancer Res*. 28:51.
2. Caştiglioni V. 2007. Enterohepatic Helicobacter spp. in colonic biopsies of dogs: molecular, histopathological and immunohistochemical, investigations. *Vet Microbiol*. 159(1-2):107-14.
3. China P. Ross H. 1997. Therapeutic intragastric vaccination against Helicobacter pylori in mice eradicates an otherwise chronic infection and Confers protection against reinfection. *Infection and Immunity*. 63:4996-5002.

اوره آز سریع و بافت‌شناسی بیان کرده و حساسیت PCR و سرم‌شناسی به ترتیب ۹۳/۵٪ و ۹۱/۳٪ گزارش کردند. ویژگی‌های RUT، PCR و سرم‌شناسی به ترتیب ۱۰۰٪، ۹۵،۶٪ و ۸۶،۷٪ بود. رامیس و همکارانش (۱۷) گزارش کردند که حساسیت آزمون‌های اوره آز، PCR و کشت به ترتیب ۱۰۰٪، ۱۰۰٪ و ۸۵،۴٪ بوده است. خادکا نیز (۱۲) ترتیب دقت روش‌های مختلف برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری را بدین ترتیب گزارش کردند: آسیب‌شناسی بافتی >RUT > سرم‌شناسی آزمایش پادگن مدفوع. آنها به این نتیجه رسیدند که موارد دقت آزمون‌های تشخیصی ممکن است بسته به جمعیت مورد مطالعه و متغیرهای آزمایشگاهی متفاوت باشد

نتیجه‌گیری کلی

این تحقیق اولین تلاش برای به کارگیری فناوری بیورزونانس در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در موش‌های آلوده تجربی است. در واقع هدف اصلی از اجرای این مطالعه، دستیابی به روشی جهت تشخیص دقیق‌تر، راحت‌تر، با هزینه کمتر، سریع‌تر و غیرتهاجمی‌تر، برای استفاده در طب انسانی و دامپزشکی است. با نتایج بدست آمده از این مطالعه می‌توان اینطور نتیجه‌گیری کرد که این روش ممکن است مشخصات مورد نیاز gold standard را در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری برآورده کند و کارایی لازم را در تشخیص باکتری در مراحل اولیه عفونت ارائه دهد. با استناد به مفاهیم پایه‌ای دانش بیورزونانس، شاید بتوان بیورزونانس یاخته‌ای

جدول ۳- نتایج مقایسه‌ای ۲ روش مختلف در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های مورد بررسی گروه تیمار (درصد نمونه‌های مثبت از کل نمونه‌های بررسی شده).

P value	آسیب شناسی	بیورزونانس	روش اندازه گیری هلیکوباکتر در روزهای مختلف گروه تیمار
۰/۰۴۳	۰/۵(۰)	۳/۵ (۶۰)	روز صفر
۰/۰۱۹	۱/۵(۲۰)	۵/۵(۱۰۰)	روز ۷
۰/۰۲۸	۲/۵(۴۰)	۵/۵(۱۰۰)	روز ۱۴
۰/۰۵۹	۳/۵(۶۰)	۵/۵(۱۰۰)	روز ۲۱
۱	۵/۵(۱۰۰)	۵/۵(۱۰۰)	روز ۲۸

جدول ۴- نتایج مقایسه‌ای ۲ روش مختلف در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های مورد بررسی گروه تیمار.

روش تشخیص هلیکوباکتر پیلوری	نمونه‌های گروه تیمار			P value
	منفی	مثبت	کل نمونه	
بیورزونانس	۲	۲۳	۲۵	۰/۰۰۰۱
آسیب شناسی بافتی	۱۴	۱۱	۲۵	
کل	۱۶	۴۴	۵۰	

4. Eshraghian A. 2014. Epidemiology of Helicobacter pylori infection among the healthy population in Iran and countries of the Eastern Mediterranean Region: a systematic review of prevalence and risk factors. *World J Gastroenterol.* 20(46):17618-25.
5. Esmacilli D. Mohabati Mobarez A. Salmanian, AH. Zavarani Hosseini A. 2009. Optimization of Helicobacter pylori culture in order to prepare favorable antigens. *Journal of Bacteriology Research.* 1(9): 101-104.
6. Esmacilli D. Mohabati Mobarez A. Sotodeh N. 2010. Reviving the Coccoid Forms of H. Pylori Serotypes. *Journal of pure and applied microbiology.* 4(2): 541-544.
7. Feldman M. Friedman LS. Brandi LJ. 2006. Sleisenger and Fortran's Gastrointestinal and liver diseases. 8th ed. Philadelphia: Saunders.
8. Filipovic N. Djukic T. Radovic M. Cvetkovic D. Curcic M. Markovic S, et al. 2014. Electromagnetic field investigation on different cancer cell lines. *Cancer Cell Int.* 14(1):1-10. 22.
9. Ho SA. Hoyle JA. Lewis FA. Secker AD. Cross D. Mapstone NP, et al. 1991. Direct polymerase chain reaction test for detection of Helicobacter pylori in humans and animals. *J Clin Microbiol.* 29(11):2543-9.
10. Jiang Q. Hiratsuka K. Taylor D.E. 1996. Variability of gene order in different Helicobacter Pylori strains contributes to genome diversity. *Mol. Microbial.* 20:833-842.
11. Kalali B. Formichella L. Gerhard M. 2015. Diagnosis of Helicobacter pylori: Changes towards the Future. *Diseases.* 3(3):122-35.
12. Khadka P. Chapagain G. Maharjan G. Paudyal P. 2018. A comparison of techniques to address the frequency of Helicobacter pylori positive dyspeptic patient. *BMC Res Notes.* 11(1):784.
13. Khalifehgholi M. Shamsipour F. Ajhdarkosh H. Daryani NE. Pourmand MR. Hosseini M, et al. 2013. Comparison of five diagnostic methods for Helicobacter pylori. *Iran J Microbiol.* 5(4):396.
14. Lu JJ. Perng CL. Shyu RY. Chen CH. Lou Q. Chong SK, et al. 1999. Comparison of five PCR methods for detection of Helicobacter pylori DNA in gastric tissues. *J Clin Microbiol.* 37(3):772-4.
15. Patel SK. Pratap CB. Verma AK. Jain AK. Dixit VK. Nath G. 2013. Pseudomonas fluorescens-like bacteria from the stomach: a microbiological and molecular study. *World Journal of Gastroenterology: WJG.* 21;19(7):1056.
16. Patel SK. Pratap CB. Jain AK. Gulati AK. Nath G. 2014. Diagnosis of Helicobacter pylori: what should be the gold standard. *World journal of gastroenterology: WJG.* 28;20(36):12847.
17. Ramis IB. de Moraes EP. Fernandes MS. MendozaSassi R. Rodrigues O. Juliano CR, et al. 2012. Evaluation of diagnostic methods for the detection of Helicobacter pylori in gastric biopsy specimens of dyspeptic patients. *Braz J Microbiol.* 43(3):903-8.
18. Sachs G. Wen Y. Scott DR. 2009. Gastric infection by Helicobacter pylori. *Curt Gastroenterol Rep* 11:455-461.
19. Sengupta S. Balla VK. 2018A review on the use of magnetic fields and ultrasound for non-invasive cancer treatment. *J Adv Res.* 14:97-111.
20. Vargas Luna J. Mayr W. Cortes-Ramirez J. 2013. Amplitude Modulation Approach for Real-Time Algorithms of ECG-Derived Respiration. *Rev Mex de Ing Biomed.* 35:53-69.
21. Yari F. Abiri R. Soleymani M. Gholipour A. Alvandi AH. 2015. Evaluation of the egg yolk enriched columbia agar for isolation of Helicobacter pylori from gastric biopsy specimens. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 16(6): 67-74.
22. Yuan Y. Padol IT. Hunt RH. 2006. Peptic ulcer disease today, *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 3:80-89.
23. Yuan C. Adeloye D, et al, 2022. The global prevalence of and factors associated with Helicobacter pylori infection in children: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Child & Adolescent Health.* Vol. 6: 3, 185-194
24. Zimmerman JW. Pennison MJ. Brezovich I. Yi N. Yang CT. Ramaker R, et al. 2012. Cancer cell proliferation is inhibited by specific modulation frequencies. *Br J Cancer.* 106(2):307-13.
25. Zimmerman JW. Jimenez H. Pennison MJ. Brezovich I. Morgan D. Mudry A, et al. 2013. Targeted treatment of cancer with radiofrequency electromagnetic fields amplitude-modulated at tumor-specific frequencies. *Chin J Cancer.* 32(11):573-81. 23.

