[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

# شیوع عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری و هلیکوباکترهای غیرپیلوری در بیماران دارای ناراحتی های گوارشی در ایران

شکیبا شفایی تیلکی[۱]، حامی کابوسی*[۱]، فاطمه پیروی قادیکلایی[۲]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد قائمشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، قائمشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۴

## چکیده

***مقدمه:*** علاوه بر هلیکوباکتر پیلوری، هلیکوباکترهای غیرپیلوری Non-Helicobacter pylori helicobacters(NHPHs) نیز در معده انسان تشخیص داده شده اند که سبب ایجاد بیماری های گوارشی می شوند. هدف از این مطالعه بررسی عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری در بیماران دارای ناراحتی های گوارشی در ایران می باشد.

***مواد و روش ها:*** این مطالعه توصیفی-مقطعی بر روی ۴۲۱ بیوپسی معده از بیمارانی که دارای ناراحتی گوارشی بودند و برای درمان هلیکوباکتر هیچ دارویی دریافت نکردند، انجام گرفت. نمونه ها به دو دسته عفونی با هلیکوباکتر پیلوری و عفونی با هلیکوباکترهای غیرپیلوری بر اساس اوره آز سریع، تجزیه بافت شناسی نمونه های بیوپسی و ژنوتایپینگ تقسیم شدند. پس از استخراج DNA، ژنوتایپینگ نمونه ها جهت تشخیص هلیکوباکتر پیلوری و هلیکوباکترهای غیرپیلوری با PCR قطعات ژنی ژن های کدکننده اوره آز A (ure A)، اوره آز B (ure B) و اوره آز AB (ure AB) انجام شد.

***یافته های پژوهش:*** ۵۷ نمونه(۱۹ درصد) بیماران عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با یکی از هلیکوباکترهای غیرپیلوری داشتند. عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر سویس ۱۰ نمونه(۳/۳ درصد)، عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر سالمونیس ۲۲ نمونه(۷/۳ درصد)، عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر هیلمانی ۱۷ نمونه(۵/۷ درصد) و عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر فلیس ۸ نمونه(۲/۷ درصد) بود.

***بحث و نتیجه گیری:*** شاید می توان گفت در مواردی که درمان هلیکوباکتر پیلوری به سختی انجام می گیرد یا شکست در درمان ایجـــاد می شود به علت وجود عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری می باشد که این نتیجه گیری نیاز به بررسی های بیشتر دارد. در عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با گونه های غیرپیلوری، هلیکوباکتر سالمونیس بیشترین شیوع را در ایرانی های دارای بیماری های گوارشی دارد.

**واژه های کلیدی:** هلیکوباکتر پیلوری، هلیکوباکترهای غیر پیلوری، هلیکوباکتر سالمونیس، عفونت توامان

* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

*Email: h.kaboosi@iauamol.ac.ir*

*Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.*

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

**مقدمه**

هلیکوباکترها، باکتری هـای میکروآئروفیل، باسیلی شکل، گرم منفی، مارپیچی شکل و دارای فلاژل هستند و متعلق به خانواده هلیکوباکتریاسه هستند. در این خانواده شش جنس وجود دارد که هلیکوباکتر شناخته شده ترین آن ها می باشد(۱).

در سال ۱۹۸۴ روبین وارن و بری مارشال عامل اصلی بیـــماری های گوارشـــی در انســـان را هلیکوباکتر پیلوری اعلام کردند(۲). این مسئله علاقه به پیدا کردن برخی دیگر از باکتری های اسپیرال که نه تنها در معده بلکه در روده انسان و حیوانات نیز وجود دارند را افزایش داد(۳). در سال ۱۹۸۷، دنت و همکاران وجود باکتری جدید را در ۳ مورد از ۱۳۰۰ نمونه بیوپسی معده گزارش نمودند که اختلاف اصلی آن ها در شکل باکتری یافت شده بود. باکتری جدید بر خلاف هلیکوباکتر پیلوری که شکلی شبـــیه S دارد، دارای خم های متعدد و کاملاً مارپیچی بود. اگر چه ابتدا گاسترواسپیرولوم هومینیس نامیده شد بعدها نشان دادند که متعلق به جنس هلیکوباکتر هستند و به طور موقت هلیکوباکتر هیلمانی نامیده شد(۴).

تعداد گونه های هلیکوباکتر در طی چند دهه به سرعت گســـترش پیدا کرد که هلیکوباکتر پیلوری مهم ترین آن ها در ایجاد عـــوارض گاسترودئودنال در انسان می باشد. به سایر گونه های هلیکوباکتر، نان پیـــلـــوری هلیکـــوباکتر یا هلیـــکوباکترهـــای غیرپیـــلوری NHPHs (Non-Hlicobacter pylori helicobacters) می گویند(۵،۶).

هلیکوباکترهای غیرپیلوری بسته به ناحیه ای که کلونیزه می شوند و بیماری که ایجاد می کنند به دو دسته تقسیم می شوند:

۱-هلیکوباکترهای غیرپیلوری که در معده خصوصاً ناحیه آنتر و تنه، دوازدهه و روده کلـــونیزه شده و ناراحتی های گوارشی ایجـــاد می کنند که به آن ها هلیکوباکترهای غیرپیـــلوری گـــــوارشی(NHPGH) می گویند.

۲-دسته دوم هلیکوباکترهای غیرپیلوری هستند که کبد را درگیر کرده و سبب آسیب پارانشیم کبد شده که موجب التهاب کبد یا سیروز کبدی می شـــوند که به آن ها هلـــیکوباکترهای غیرپیـــلوری انتروهپاتیک (NHPEHs) می گویند(۵).

در بین هلیکوباکترهای غـــیرپیلوری گوارشی پنج گونه شامل هلیکوباکتر سویس(Helicobacter suis)، هلیکوباکتر فلیس(Helicobacter felis)، هلـــیکوباکتر سالمونیس(Helicobacter Salomonis)، هلیـکوباکتر هیلمانی(Helicobacter heilmannii) و هلـــیکوباکتر بیزازرونی(Helicobacter bizzozeronii) بیـــشتر از سایر گونه های غیرپیـــلوری در معده و روده انسان و حیوانات کلونیزه می شوند و سبب ایجاد ناراحتی های گوارشی از جمله التهاب معده، زخم معده، زخم دوازدهه، ســـرطان مـــعده و لنـــفومای بافـــت لنفوئیدی مخاطی MALT (Lymphoied tissue lymphoma Mucosa associated) می شـــوند ولی نســـبت به هلیکوباکتر پیلوری بیـــماری مـــلایم تری ایجاد می کنند(۷).

هلیکوباکترهای غیرپیلوری را بر اساس آنالیز ژنی 16s rRNA به دو تایپ تقسیم می کنند:

تایپ ۱: هلیکوباکتر سوئیـــس که بیشتر در معده خوک کلونیزه می شود.

تایپ ۲: شامل هلیکوباکتر بیزازرونی، هلیکوباکتر فلیس، هلیکوباکتر سالمونیس و هلیکوباکتر هـــیلمانی می باشد که بیشتر در موکوس مـــخاط معده سگ و گربه کلونیزه می شود و سبب ناراحـــتی های معده و دوازدهه می شود(۸).

عفونت هلیکوباکتر پیلوری از انسان به انسان منتقل می شود در حالی که عفونت با هلیکوباکترهای غیرپیلوری جزء عفونت های زئونوز یعنی مشترک بین انسان و دام محـــسوب می شـــوند. هلیکوباکترهای غیرپیلوری طیف میزبانی وسیعی از جمله سگ، گربه، خوک، گراز، جوجه، مرغ، میمون و پریمات ها غیر انسانی دارند(۹).

انتقال هلـــــیکوباکترهای غیرپیلوری به انسان می تواند از طریق تماس مستقیم با حیوان و ترشحات حیوان مثل بزاق حیواناتی مانند سگ صورت گیرد. هم چنین انتقال مدفوعی-معده ای و مدفوعی-دهانی نیز می تواند صـــورت گـــیرد. مدفوع حیوان آلوده به هلیکوباکترها غیرپیلوری می تواند سبب آلودگی آب و

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

خاک شود که این خود سبب گسترش آلودگی می شود(۵،۱۰). به همین دلیل و هم چنین وجود حیوانات خانگی مانند سگ، گربه، احشام، گاو و یا خوک سبب می شود که میزان شیوع آلودگی هلیکوباکترهای غیرپیلوری در مناطق روستایی بیشتر از مناطق شهری باشد(۱۱).

مطالعات نشان داده است که آتروفی معده در اثر هلیکوباکترها مشخصاً با عملکرد غیرطبیعی یا از بین رفتن سلول های کناری معده همراه است(۱۲). این دقیقاً همان کاری است که هلیکوباکترهای غیرپیلوری نیز انجام می دهند چون هلیکوباکترهای غیرپیلوری خصوصاً هلیکوباکتر سویس در اغلب موارد نزدیک سلول های کناری و یا حتی داخل کانالیکول های سلول های کناری معده دیده شده اند و سبب دژنره شدن این سلول ها می شوند اما هلیکوباکتر پیلوری در لایه های مخاطی معده دیده می شود(۱۳).

تحقیقات نشان داده که عفونت با هلیکوباکتر پیلوری به تنهایی راحت تر کنترل می شود. عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری سبب تحریک بیشتر و برانگیخته شدن اثرات مخرب هلیکوباکتر پیلوری می شود(۱۴).

در ارتباط با میزان شیوع هلیکوباکتر پیلوری مطالعات زیادی در کشور انجام شده است(۱۵،۱۶)، اما در زمینه هلیکوباکترهای غیرپیلوری و شیوع عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری بررسی جامعی در کشور صورت نگرفته است. هدف از این مطالعه بررسی عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری در بیماران دارای ناراحتی های گوارشی در ایران می باشد.

## مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی-مقطعی(Crass sectional) از خرداد ۱۳۹۴ تا بهمن ۱۳۹۶ بر روی ۴۲۱ بیمار بالای ۱۸ سال که سابقه جراحی معده نداشتند و دارای ناراحتی گوارشی، ناراحتی معده، درد ناحیه شکم(اپی گاستر) و زخم معده بودند و به بخش اندوسکوپی بیمارستان های امام خمینی تهران، لباف نژاد تهران و مهراد تهران مراجعه کردند، انجام شد. هم چنین افرادی که داورهایی مانند: آنتی بیوتیک یا بیسموت(از سه ماه قبل)، مهارکننده های پمپ پروتون(از یک ماه قبل)، منع کننده های گیرنده هیستامین(یک یا دو روز قبل) و یا داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی دریافت کرده بودند، وارد مطالعه نشدند. قبل از انجام اندوسکوپی ضمن گرفتن رضایت از بیماران اطلاعات دموگرافیک بیماران ثبت شد.

*نمونه گیری:* حین عمل اندوسکوپی دو نمونه بیوپسی از قسمت آنتروم و تنه(Corpus) معده گرفته شد. یک نمونه جهت بررسی از نظر آسیب شناسی در ویال محتوی فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد و به آزمایشگاه آسیب شناسی فرستاده شد. نمونه دیگر به دو قسمت تقسیم شد، یک قسمت جهت انجام تست اوره آز سریع وارد تیوپ حاوی تست اوره آز شد. این ویال به صورت تجاری تهیه شد و حاوی تست اره آز و معرف فنل رد می باشد. نمونه دیگر وارد ویال حاوی محیط ترانسپورت(نرمال سالین ۰/۹ درصد) شد و به آزمایشگاه هلیکوباکتر دانشگاه تربیت مدرس تهران منتقل شد و در منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد تا آزمایش PCR انجام شود.

*ژنوتایپینگ و استخراج DNA:* در این مطالعه جهت تشخیص هلیکوباکتر پیلوری و هلیکوباکترهای غیرپیلوری از آنالیز قطعه ژنی ژن های کدکننده اوره آز A (ure A)، اوره آز B (ure B) و اوره آز (ure AB) AB استفاده شد(۱۹-۱۷). جهت استخراج DNA از کیت کواژن شرکت بیوفلوکس آمریکا استفاده شد. در پایان کار با ریختن آب مقطر استریل DNA از حالت رشته ای در آمده و کاملا در آب حل شد.

*انجام PCR:* اجزای واکنش برای یک واکنش اوره آز(ure A, ure B, ure AB) به ترتیب زیر به یک تیوب میکروسانتریفیوژ ۰/۵ میلی لیتر اضافه گردید: ۱۰/۵ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۲ میکرولیتر از dNTPs ۲ میلی مولار، ۱۰ پیکومول پرایمر Forward، ۱۰ پیکومول پرایمر Reverse، ۱ مول DNA الگو رقیق شده، یک واحد DNA تگ پلیمراز مقاوم به حرارت از شرکت بیوتک اینترنشنال، ۲ میلی مول از کلرید منیزیم وآب دیونیزه استریل به میزانی که حجم نهایی مخلوط واکنش به ۵۰ میکرولیتر برساند. مواد توسط میکروسانتریفیوژ به مدت

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]

Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

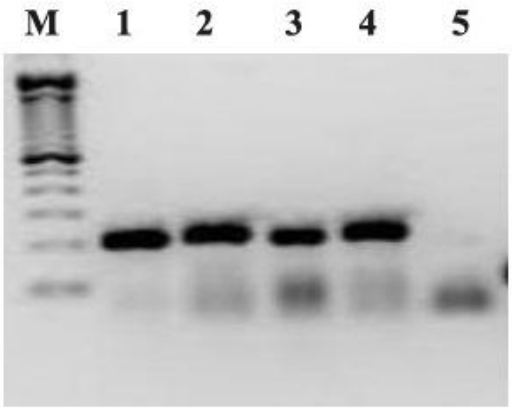
۱ ثانیه سانتریفیوژ شد تا با هم مخلوط گردند. سپس لوله ها را در دستگاه ترموسایکلر( Perkin Elmer PE 2400 thermocycler) قرار داده و به ترتیب زیر برنامه به دستگاه ترموسایکلر داده شد: ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه(جهت دناتوراسیون الگو)، سپس ۳۵ سیکل(۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ ثانیه، ۵۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱/۵ دقیقه) و جهت تکثیر نهایی برنامه ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه اجرا شد(جدول شماره ۱). ۵ تا ۱۵ میکرولیتر از مخلوط واکنش جهت بررسی نتایج بر روی ژل آگاروز ۲ درصد الکتروفورز شد و توسط رنگ اتیدیوم بروماید و نور ماورای بنفش مشاهده و نتایج تفسیر گردید. برای هلیکوباکتر پیلوری از نمونه DNA سویه های استاندارد(ATCC 26695) و جهت هلیکوباکترهای غیرپیلوری از نمونه بالینی کاراکترایز شده به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

**جدول شماره ۱. پرایمرهای PCR جهت شناسایی هلیکوباکترها**

| منبع | اندازه محصول PCR | توالی پرایمر | ژن هدف | گونه هلیکوباکتر |
|---|---|---|---|---|
| (۱۸) | ۲۱۷ | FW (5′-AAAGAGCGTGGTTTTCATGGCG-3′)<br>RV (5′-GGGTTTTACCGCCACCGAATTTAA-3′) | Ure AB | هلیکوباکتر پیلوری |
| (۱۹) | ۲۵۳ | FW (5′-CAC CAC CCC GGG GAA GTG ATC TTG-3′)<br>RV (5′-CTA CAT CAA TCA AAT GCA CGG TTT TTT CTT CG-3′) | Ure A | هلیکوباکتر سویس |
| (۱۷) | ۳۶۸ | FW (5′-CTTTCTCCTGGTGAAGTGATTCTC-3′)<br>RV (5′-CAGTTGATGGTGCCAAAG-3′) | Ure A | هلیکوباکتر هیلمانی |
| (۱۷) | ۳۵۰ | FW (5′-TCCCACTACCGGGGATCGTG-3′)<br>RV (5′-CAGCGGTTACAATCAAGCCCTCA-3′) | Ure B | هلیکوباکتر فلیس |
| (۱۷) | ۲۱۹ | FW (5′-CTTTGGGTCTGTGCCTGCCTG-3′)<br>RV (5′-CATCGCGGATAGTCTTACCGCCT-3′) | Ure AB | هلیکوباکترسالمونیس |

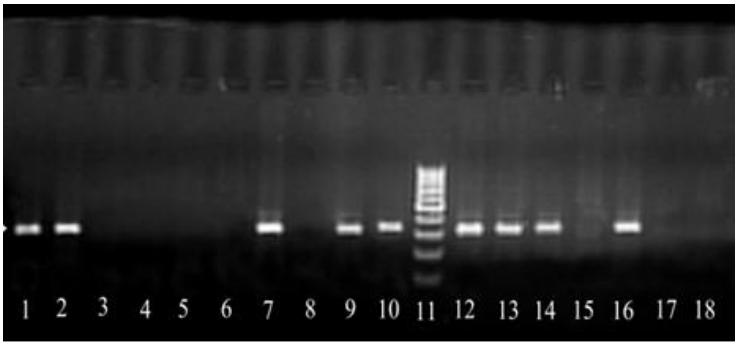
## یافته های پژوهش

از ۴۲۱ بیمار مورد مطالعه، ۳۰۰ بیمار(۷۱/۲۵ درصد) هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند. هم چنین در ۶۰ بیمار(۱۴/۲۵ درصد)، وجود DNA حداقل یکی از هلیکوباکترهای غیرپیلوری مورد بررسی اثبات شد (شکل شماره ۱ و ۲). ۶۱ بیمار(۱۴/۴۹ درصد) نیز آلودگی به هلیکوباکتر نداشتند. از ۳۰۰ بیمار هلیکوباکتر پیلوری مثبت، ۱۴۸ بیمار(۴۹/۳۳ درصد) مرد و ۱۵۲ بیمار(۵۰/۶۷ درصد) بیماران زن بودند. در ۵۵ درصد موارد ناراحتی بیماران، التهاب معده بود. زخم دوازدهه ۲۶/۳۰ درصد و زخم معده ۱۸/۷۰ درصد از فراوانی ناراحتی گوارشی بیماران را تشکیل دادند. اطلاعات دموگرافیک بیماران در جدول شماره ۲ آمده است.




**شکل شماره ۱. محصول PCR بافت بیوپسی زخم معده برای هلیکوباکتر سالمونیس. ستون M خط کش ژنی ۱۰۰bp، ستون ۱ کنترل مثبت(۲۱۹ bp)، ستون ۴-۲ . نمونه بالینی واجد هلیکوباکتر سالمونیس**

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

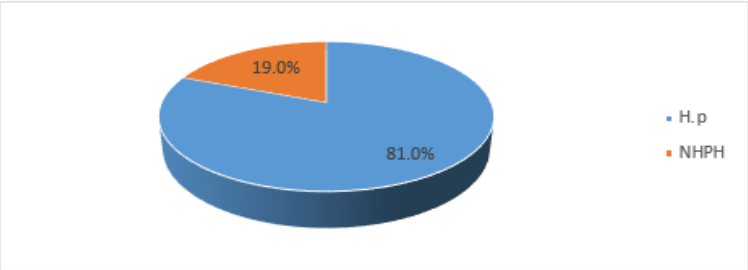



**شکل شماره ۲. محصول PCR بافت بیوپسی معده برای هلیکوباکتر فلیس. ستون ۱۱ خط کش ژنی ۱۰۰bp، ستون ۱۰ کنترل مثبت(۳۵۰ bp)، ستون ۱، ۲، ۷، ۹، ۱۴-۱۲ و ۱۶. نمونه بالینی واجد هلیکوباکتر فلیس**

**جدول شماره ۲. اطلاعات دموگرافیک بیماران هلیکوباکتر پیلوری مثبت**

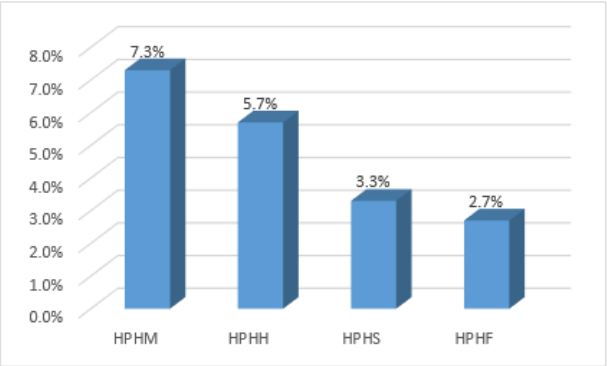
| نوع بیماری گوارشی | التهاب معده | زخم معده | زخم دوازدهه |
|---|---|---|---|
| افراد مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری | ۱۶۵ (٪۵۵) | ۵۶ (٪۱۸/۷۰) | ۷۹ (٪۲۶/۳۰) |
| جنس مذکر | ۷۰ | ۳۵ | ۴۳ |
| متوسط سن | ۴۱ | ۳۴ | ۳۶ |

از ۳۰۰ بیمار هلیکوباکتر پیلوری مثبت، پس از انجام PCR با پرایمرهای هلیکوباکترهای غیرپیلوری، ۲۴۳ بیمار(۸۱ درصد) فقط به هلیکوباکتر پیلوری آلوده بودند و ۵۷ بیمار(۱۹ درصد) عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با یکی از هلیکوباکترهای غیرپیلوری داشتند که شامل: عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر سالمونیس ۲۲ مورد(۷/۳ درصد)، عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر هیلمانی ۱۷ مورد (۵/۷ درصد)، عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر سویس ۱۰ مورد(۳/۳ درصد) و عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر فلیس ۸ مورد (۲/۷ درصد) بود. عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با بیش از یک هلیکوباکتر غیرپیلوری مشاهده نشد(نمودار شماره ۱ و ۲).




**نمودار شماره ۱. درصد فراوانی هلیکوباکتر پیلوری به تنهایی(H.p) و عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری(NHPH)**

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020




**نمودار شماره ۲. درصد فراوانی عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری(HPHM: عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر سالمونیس، HPHH: عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر هیلمانی، HPHS: عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر سویس، HPHF: عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر فلیس)**

در بررسی عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با غیرپیلوری ها، هلیکوباکتر سالمونیس با ۷/۳ درصد دارای بیشترین فراوانی می باشد که ۱۲ مورد(۴ درصد) از زخم معده، ۷ مورد(۲/۳۳ درصد) از التهاب معده و ۳ مورد(۱ درصد) از زخم دوازدهه به دست آمد. عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر هیلمانی با فراوانی ۵/۷ درصد دارای رتبه دوم می باشد که از ۱۷ مورد جدا شده، ۸ مورد(۲/۶۷ درصد) از زخم دوازدهه، ۴ مورد(۱/۳۳ درصد) از زخم معده و ۵ مورد(۱/۶۷ درصد) از التهاب معده مشاهده شد. در این مطالعه عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر سویس با ۱۰ مورد یعنی فراوانی ۳/۳ درصد در جایگاه سوم قرار دارد که از این تعداد ۵ مورد(۱/۶۷ درصد) از زخم معده، ۳ مورد(۱ درصد) از زخم دوازدهه و ۲ مورد(۰/۶۷ درصد) از التهاب معده جدا شد. عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر فلیس با ۸ مورد (۲/۶۷ درصد) کمترین فراوانی را داشت(جدول شماره ۳).

**جدول شماره ۳. فراوانی گونه های غیرپایلوری در عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری**

| گونه غیرپیلوری در عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری | التهاب معده N=۱۶۵ | زخم معده N=۵۶ | زخم دوازدهه N=۷۹ |
|---|---|---|---|
| هلیکوباکتر هیلمانی | ۵ (٪۱/۶۷) | ۴ (٪۱/۳۳) | ۸ (٪۲/۶۷) |
| هلیکوباکترسویس | ۲ (٪۰/۶۷) | ۵ (٪۱/۶۷) | ۳ (٪۱) |
| هلیکوباکتر فلیس | ۲ (٪۰/۶۷) | ۴ (٪۱/۳۳) | ۲ (٪۰/۶۷) |
| هلیکوباکتر سالمونیس | ۷ (٪۲/۳) | ۱۲ (٪۴) | ۳ (٪۱) |

## بحث و نتیجه گیری

۵۰ درصد مردم جهان مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری هستند(۱۵)، اما میزان شیوع ابتلا به هلیکوباکترهای غیرپیلوری بسیار پایین تر از هلیکوباکتر پیلوری می باشد و در حدود ۰/۲ تا ۶ درصد اعلام شده است(۳،۸،۱۱،۱۳،۲۰).

در زمینه میزان شیوع هلیکوباکترهای غیرپیلوری در ایران اطلاعاتی وجود ندارد چون در این زمینه در ایران به جز بررسی بهادری و همکاران مطالعه دیگری تا کنون انجام نشده است. در بررسی بهادری و همکاران که در سال ۲۰۱۴ در شهر تبریز انجام شد از ۲۷۰ بیمار مورد مطالعه، فقط دو بیمار آلوده به هلیکوباکترهای

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

غیرپیلوری بودند که هر دو هلیکوباکتر هیلمانی بود(۵)، در حالی که در مطالعه ما میزان شیوع هلیکوباکترهای غیرپیلوری ۶۰ بیمار(۱۴/۲۵ درصد) بود.

از سوی دیگر در مطالعه ما میزان شیوع هلیکوباکتر پیلوری ۷۱/۲۵ درصد بود در حالی که در مطالعه اشتری که در ۲۰۱۵ انجام شد، شیوع هلیکوباکتر پیلوری ۸۳/۵ درصد گزارش شد(۱۵). هم چنین در سایر مطالعات که در ایران انجام شد میزان شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری گاهی بیشتر از مطالعه ما می باشد(۲۱). کمتر بودن میزان شیوع هلیکوباکتر پیلوری در مطالعه ما، نظر اشتری و همکاران مبنی بر رو به کاهش بودن دامنه عفونت به هلیکوباکتر پیلوری در ایـــران را تایـــید می کند(۱۵).

در مطالعه اوزایدین که در سال ۲۰۱۳ در ترکیه انجام شد میزان شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۸۲/۵ درصد گزارش شد(۲۲). ۱۰ درصد عفونت با هلیکوباکتر پیلوری منجر به زخم معده، ۱ درصد تا ۳ درصد منجر به آدنوکارسینوما و کمتر از ۱ درصد منجر به لنفومای بافت لنفاوی مخاطی می شود(۲۳).

مطالعات اخیر نشان می دهد که ریسک ابتلا به لنفومای بافت لنفوئیدی مخاطی(MALT) در انسان در اثر عفونت با هلیکوباکترهای غیرپیلوری خیلی بیشتر از عفونت با هلیکوباکتر پیلوری می باشد(۱۳).

در مطالعه ما میزان عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیر پیلوری ۱۹ درصد به دست آمد که بیشتر از سایر کشور ها می باشد(۲۴). در تحقیقی مشابه که توسط لیو و همکاران در چین انجام شد میزان این عفونت توامان ۱۲ درصد گزارش شد(۱۸)، به نظر می رسد دامنه عفونت به منطقه جغرافیایی، شرایط اقتصادی و اجتماعی و تکنولوژی تشخیص باکتری بستگی دارد(۲۵).

در تحقیق حاضر بیشترین هلیکوباکترهای غیرپیلوری اثبات شده در عفونت توامان با هلیکوباکتر پیلوری، هلیکوباکتر سالمونیس با فراوانی ۷/۳ درصد می باشد، اما در تحقیقی که در سال ۲۰۱۴ در چین انجام شد عفونت توام هلیکوباکتر سالمونیس با هلیکوباکتر پیلوری ۲/۵۴ درصد گزارش شد(۱۸).

در مطالعه لیو و همکاران عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری و هلیکوباکتر سویس با ۶/۹۴ درصد بیشترین فراوانی را داشت(۱۸) اما در مطالعه ما فراوانی هلیکوباکتر سویس در عفونت توامان ۳/۳ درصد بود. هلیکوباکتر سویس گسترش جهانی دارد(۲۶) و در اکثر مطالعات هلیکوباکتر سویس بیشترین غیرپیلوری گزارش شده از بیماران می باشد(۲۷،۱۸،۱۷). خوک ها مهم ترین منبع ذخیره و انتقال هلیکوباکتر سویس به انسان می باشند. این انتقال می تواند هم از طریق تماس مستقیم با حیوان و هم از طریق مصرف گوشت خام و نیم پز این حـــیوان صـــورت گیرد(۲۶،۱۷). بررسی ها نشان می دهد که هلیکوباکتر سویس توانایی دارد تا ۴۸ ساعت در گوشت خوک زنده بماند(۱۷). به نظر می رسد به دلیل عقاید مذهبی و عدم مصرف گوشت خوک در ایران فراوانی این باکتری در جوامع ایرانی و از جمله تحقیق حاضر کم باشد.

در مطالعه ما عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر هیلمانی با فراوانی ۵/۷ درصد در رتبه دوم قرار داشت. هم چنـــین در تحـــقیق حاضر از بین هلیکوباکترهای غیرپیلوری توام با هلیکوباکتر پیلوری، هلیکوباکتر هیلمانی با فراوانی ۲/۶۷ درصد(۸ مورد) بیشتر در زخم دوازدهه به اثبات رسید. در مطالعه ای که یاکوب و همکاران در سال ۲۰۱۲ در پاکستان انجام دادند ۵۷ درصد بیماران هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند. عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری و غیرپیلوری ها ۱۰ درصد بود(۶)، که از مطالعه ما(۱۹درصد) کمتر بود که می تواند به دلیل تعداد کمتر بیماران در مطالعه یاکوب و همکاران باشد. در مطالعه یاکوب و همکاران عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکـــوباکـتر هیلمانی ۶ درصد گزارش شد که اندکی بیشـــتر از مطـــالعه ما می باشد، می توان گفت شرایط اقتصادی و بهداشتی در رنج عفونت در هر منطقه تاثیر گذار می باشد.

هلیکوباکتر هیلمانی بر خلاف هلیکوباکتر پیلوری در قسمت های عمیق تر ناحیه آنتروم جایگزین می شود و سبب آپپتوز سلول های کناری می شود، زیرا این باکتری را در کانالیکوله ای بین سلولی سلول های کناری تشخیص دادند که تمامی این سلـــول ها دچار

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

آپیتوز شده بودند. از نظر مورفولوژی هلیکوباکتر هیلمانی با هلیکوباکتر پیلوری کاملاً متفاوت بوده و تقریباً دو برابر آن می باشد و بر خلاف هلیکوباکتر پیلوری کاملا مارپیچ می باشد(۲۷).

در مطالعه ما عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکتر فلیس دارای کمترین فراوانی(۲/۶۷ درصد) بود، اما در مطالعه فریتز که در آفریقا انجام شد میزان شیوع هلیکوباکتر فلیس ۲۵/۵۶ درصد بود. شیوع بالای هلیکوباکتر فلیس در آفریقا به دلیل وجود ژن مقاومت به مترونیدازول می باشد که این ژن در هلیکوباکتر فلیس در جمعیت آفریقا زیاد می باشد(۲۸). عفونت با هلیکوباکتر فلیس به طور مشخص سبب کاهش اینترلوکین یک بتا(IL-1β) می شود. هم چنین این باکتری سبب افزایش اینترلوکین ۱۰ (IL-10) می شود، که موارد فوق سبب به هم خوردن تنظیم سیستم ایمنی بیمار شده و یک ریسک فاکتور برای بروز سرطان معده است(۲۹). از عفونت هلیکوباکتر فلیس در موش به عنوان مدل حیوانی جهت مطالعه رابطه بین هلیکوباکتر پیلوری و بیماری گوارشی معده استفاده می شود(۳۰).

در مطالعه ما هلیکوباکتر سالمونیس شایع ترین هلیکوباکتر غیرپیلوری در عفونت توامان با هلیکوباکتر پیلوری در ایران می باشد. در بررسی ما ۱۹ درصد بیماران مبتلا به عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری بودند که نسبت به مطالعه بهادری و همکاران(۵) که تنها مطالعه مشابه انجام شده در ایران است و هم چنین بسیاری از مطالعات مشابه ذکر شده فوق در خارج از کشور، بسیار قابل تامل می باشد که نشان دهنده روند رو به افزایش عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری می باشد. از آن جایی که ریسک ابتلا به لنفومای بافت لنفوئیدی مخاطی(MALT) در انسان در اثر عفونت با هلیکوباکترهای غیرپیلوری خیلی بیشتر از عفونت با هلیکوباکتر پیلوری می باشد(۱۳)، می تواند بیان کننده اهمیت بررسی میزان شیوع هلیکوباکترهای غیرپیلوری در جوامع ایرانی باشد. هم چنین در مواردی که بیمار علایم ناراحتی گوارشی دارد ولی از نظر هلیکوباکتر پیلوری منفی می باشد می توان وجود هلیکوباکترهای غیرپیلوری را مد نظر قرار داد و نمونه های بیوپسی بیمار از نظر وجود این باکتری ها نیز مورد بررسی قرار گیرد. بررسی میزان شیوع هلیکوباکترهای غیرپیلوری در مناطق مختلف ایران می تواند برای متخصصان محترم گوارش نیز جهت پیگیری درمان بیماران مفید باشد. نهایتاً شاید بتوان نتیجه گرفت که در مواردی که درمان هلیکوباکتر پیلوری به سختی انجام می گیرد یا درمان هلیکوباکتر پیلوری با شکست مواجه می شود به علت وجود عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با هلیکوباکترهای غیرپیلوری باشد که البته این نتیجه گیری نیاز به بررسی های بیشتر دارد.

## سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از رساله دکتری تخصصی میکروبیولوژی با عنوان «اپیدمیولوژی مولکولی هلیکوباکترهای غیرپیلوری در بیماران دارای ناراحتی های گوارشی در ایران» با شماره مصوب A-10-10609-1 می باشد. این تحقیق در آزمایشگاه هلیکوباکتر دانشگاه تربیت مدرس تهران انجام شد و از مسئولین محترم آن آزمایشگاه به خصوص جناب آقای دکتر امین طالبی بزمین آبادی به خاطر راهنمایی ها و همکاری آن ها صمیمانه سپاسگزاریم.

*کد اخلاق:* IR.IAUAMOL.REC.1396.034

*References*

1.Menard A, Buissonniere A, Prouzet-Mauleon V, Sifre E, Megraud F. The GyrA encoded gene: A pertinent marker for the phylogenetic revision of Helicobacter genus. Syst Appl Microbiol 2016; 39: 77-87. doi: 10.1016/j.syapm.2015.09.008.

2.Moyaert H, Haesebrouck F, Dewulf J, Ducatelle R, Pasmans F. Helicobacter equorum is highly prevalent in foals. Vet Microbiol 2009; 133: 190-2. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.06.004.

3.Kivisto R, Linros J, Rossi M, Rautelin H, Hanninen ML. Characterization of multiple Helicobacter bizzozeronii isolates from a Finnish patient with severe dyspeptic symptoms and chronic active gastritis. Helicobacter 2010; 15: 58-66. doi: 10.1111/j.1523-5378.2009.00730.x.

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

4.Ghil HM, Yoo JH, Jung WS, Chung TH, Youn HY, Hwang CY. Survey of Helicobacter infection in domestic and feral cats in Korea. J Vet Sci 2009; 10: 67-72. doi: 10.4142/jvs.2009.10.1.67.

5.Bahadori A, Esmaeillu M, Bahadori F, Sadighbayan KH, Attarhosseani M, Ziaei R. Non pylori Helicobacter identified as H. heilmannii in gastric biopsy sample in humans with gastric disorders by PCR and microscopic methods in Iran. Euro J Zool Res 2014; 3: 92-6.

6.Yakoob J, Abbas Z, Khan R, Naz S, Ahmad Z, Islam M, et al. Prevalence of non Helicobacter pylori species in patients presenting with dyspepsia. BMC Gastroenterol 2012; 12: 3. doi: 10.1186/1471-230X-12-3.

7.Goji S, Tamura Y, Sasaki M, Nakamura M, Matsui H, Murayama SY, et al. Helicobacter suis infected nodular gastritis and a review of diagnostic sensitivity for Helicobacter heilmannii like organisms. Case Rep Gastroenterol 2015; 9:179-87. doi: 10.1159/000431169.

8.Haesebrouck F, Pasmans F, Flahou B, Chiers K, Baele M, Meyns T, et al. Gastric helicobacters in domestic animals and nonhuman primates and their significance for human health. Clin Microbiol Rev 2009; 22: 202-23. doi: 10.1128/CMR.00041-08.

9.Shiratori S, Mabe K, Yoshii S, Takakuwa Y, Sato M, Nakamura M, et al. Two cases of chronic gastritis with non-Helicobacter pylori Helicobacter infection. Int Med 2016; 55: 1865-9. doi: 10.2169/internalmedicine.55.5891.

10.Flahou B, Van Deun K, Pasmans F, Smet A, Volf J, Rychlik I, et al. The local immune response of mice after Helicobacter suis infection: strain differences and distinction with Helicobacter pylori. Vet Res 2012; 43:75. doi: 10.1186/1297-9716-43-75.

11.Bento-Miranda M, Figueiredo C. Helicobacter heilmannii sensu lato an overview of the infection in humans. World J Gastroenterol 2014; 20: 17779- 87. doi: 10.3748/wjg.v20.i47.17779.

12.Saha A, Hammond CE, Beeson C, Peek RM, Smolka AJ. Helicobacter pylori represses proton pump expression and inhibits acid secretion in human gastric mucosa. Gut 2010;59: 874-81. doi: 10.1136/gut.2009.194795.

13.Zhang G, Ducatelle R, Bruyne E, Joosten M, Bosschem I, Smet A, et al. Role of γ-glutamyltranspeptidase in the pathogenesis of Helicobacter suis and Helicobacter pylori infections. Vet Res 2015; 46:31. doi: 10.1186/s13567-015-0163-6.

14.Peng X, Zhou L, Gong Y, Song Z, He L, Lin S, et al. Non pylori Helicobacters induce shifts in gastric microbiota in Helicobacter pylori infected patients. Fron Microbiol 2017; 8:1038. doi: 10.3389/fmicb.2017.01038.

15.Ashtari S, Pourhoseingholi MA, Molaei M, Taslimi H, Zali MR. The prevalence of Helicobacter pylori is decreasing in Iranian patients. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2015; 8: 23-9.

16.Abadi ATB. Strategies used by Helicobacter pylori to establish persistent infection. World J Gastroenterol 2017; 23:2870-882.
doi: 10.3748/wjg.v23.i16.2870.

17.Orourke JL, Solnick JV, Neilan BA, Seidel K, Hayter R, Hansen LM, et al. Description of candidatus helicobacter heilmannii based on DNA sequence analysis of 16S rRNA and urease genes. Int J Sys Evol Microbiol 2004; 54: 2203-11. doi: 10.1099/ijs.0.63117-0.

18.Liu J, He L, Haesebrouck F, Gong Y, Flahou B, Cao Q, et al. Prevalence of coinfection with gastric non-helicobacter pylori helicobacter species in Helicobacter pylori infected patients suffering from gastric disease in Beijing China. Helicobacter 2015; 20: 284-90. doi: 10.1111/hel.12201.

19.De Cooman L, Flahou B, Houf K, Smet A, Ducatelle R, Pasmans F, et al. Survival of Helicobacter suis bacteria in retail Pig meat. Int J Food Microbiol 2013; 166:164-7. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.05.020.

20.Joo M, Kwak JE, Chang SH, Kim H, Chi JG, Kim KA, et al. Helicobacter heilmannii-associated gastritis: clinicopathologic findings and comparison with Helicobacter pylori-associated gastritis. J Korean Med Sci 2007; 22: 63-9. doi: 10.3346/jkms.2007.22.1.63.`

21.Boyanova L, Lazarova E, Jelev C, Gergova G, Mitov I. Helicobacter pylori and Helicobacter heilmannii in untreated Bulgarian children over a period of 10

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

years. J Med Microbiol 2007;56:1081-5. doi: 10.1099/jmm.0.47181-0.
22.Ozaydin N, Turkyilmaz SA, Cali S. Prevalence and risk factors of Helicobacter pylori in Turkey a nationally representative cross sectional screening with the C-Urea breath test. BMC Publ Health 2013; 13:1215. doi: 10.1186/1471-2458-13-1215.
23.Shafie AM, Hegran HH. Abdallah AbdH, Khalifa W. Update in pathophysiology and management of Helicobacter pylori in children. Life Sci J 2014;11: 947-52.
24.Matsui H, Takahashi T, Murayama SY, Uchiyama I, Yamaguchi K, Shigenobu S, et al. Development of new PCR primers by comparative genomics for the detection of Helicobacter suis in gastric biopsy specimens. Helicobacter 2014; 19: 260-71. doi: 10.1111/hel.12127.
25.Bulck K, Decostere A, Baele M, Driessen A, Debongnie JC, Burette A, et al. Identification of non Helicobacter pylori spiral organisms in gastric samples from humans dogs and cats. J Clin Microbiol 2005; 43: 2256-60. doi: 10.1128/JCM.43.5.2256-2260.2005.
26.Vermoote M, Flahou B, Pasmans F, Ducatelle R, Haesebrouck F. Protective efficacy of vaccines based on the Helicobacter suis urease subunit B and γ-glutamyl transpeptidase. Vaccine 2013; 31: 3250-6. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.05.047.
27.Nishikawa K, Nakamura M, Takahashi S, Matsui H, Murayama SY, Matsumoto T, et al. Increased apoptosis and angiogenesis in gastric low-grade mucosa associated lymphoid tissue type lymphoma by Helicobacter heilmannii infection in C57/BL6 Mice. FEMS Immunol Med Microbiol 2007; 50: 268-72. doi: 10.1111/j.1574-695X.2007.00252.x.
28.Fritz EL, Slavik T, Delport W, Olivier B, Merwe SW. Incidence of Helicobacter felis and the effect of coinfection with Helicobacter pylori on the gastric mucosa in the African population. J Clin Microbiol 2006; 44: 1692-6. doi: 10.1128/JCM.44.5.1692-1696.2006.
29.Arnold IC, Zigova Z, Holden M, Lawley TD, Rad R, Dougan G, et al. Comparative whole genome sequence analysis of the carcinogenic bacterial model pathogen Helicobacter felis. Genome Biol Evol 2011; 3: 302-8. doi: 10.1093/gbe/evr022.
30.Rogers AB. Gastric Helicobacter spp. in animal models pathogenesis and modulation by extragastric coinfections. Meth Mol Biol 2012; 921: 175-88. doi: 10.1007/978-1-62703-005-2_21.

[ DOI: 10.29252/sjimu.27.3.101 ]
Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir at 3:30 IRST on Wednesday October 21st 2020

# Prevalence of Coinfection Helicobacter pylori with Non-Helicobacter pylori Helicobacters Species in Patients Suffering from Gastric Diseases in Iran

*Shafaietilaki S[1], Kaboosi H[1*], Peyraviighadikolaii F[2]*

**(Received: January 29, 2019 Accepted: May 25, 2019)**

**Abstract**

*Introduction:* In addition to Helicobacter pylori, non-Helicobacter pylori helicobacters (NHPHs) have been diagnosed in the humans stomach that caused gastrointestinal diseases. This study aimed to evaluate the coinfection of H. pylori with NHPHs species in patients with gastric disorders in Iran.

*Materials & Methods:* This cross-sectional study was performed on 421 gastric biopsies form dyspeptic patients, who did not receive any treatment for H. pylori. The samples were divided into H. pylori-infected and NHPHs-infected groups, based on the rapid urease test, histological analysis of biopsies, and genotyping. After DNA extraction, genotyping of samples was performed to detect H. pylori and NHPHs with PCR of encoding genes fragments for urease A (ure A), urease B (ure B) and urease AB (ure AB).

*Findings:* The results of the present study revealed that 57 patients (19%) had coinfection H. pylori with one of the NHPHs,10 patients (3.3%) has coinfection of H. pylori with NHPHs for H. suis,22 patients (7.3%) had coinfection of H. pylori with NHPHs H. salomonis,17 patients(5.7%) had coinfection of H. pylori with NHPHs for H. heilmannii (5.7%) ,and 8 patients (2.7%) had Coinfection of H. pylori with NHPHs for H. felis. *Ethics code:* IR.IAUAMOL.REC.1396.034

*Discussion& Conclusions:* Based on the results of the current study, it can be conclude that difficulties and failures in the treatment of H.pylori is probably due to the coinfection of H.pylori with NHPHs species ;however, this conclusion requires further investigations.Additionally,in coinfection H. pylori with NHPHs, H. salomonis was found to be the most prevalent in Iranian patients with gastric disorders.

*Keywords:* Helicobacter pylori, Non-H. pylori helicobacters, H. salomonis, Co infection

*1.Dept of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran*
*2.Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran*
** Corresponding author Email: h.kaboosi@iauamol.ac.ir*