

## Relationship of Bacteria Isolated from Antral Gastric Biopsy with the Incidence of Dyspepsia in Patients Referred to Mehrad and Labbafinejad Hospitals, Tehran, Iran, in 2018

Mahnaz Mohammadi<sup>1</sup> , Amin Talebi Bezmin Abadi<sup>1\*</sup> , Farid Rahimi<sup>2</sup>, Mojgan Forootan<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> School of Biological Research, University of Canberra, Canberra, Australia

<sup>3</sup> Dept of Gastroenterology and Hepatology, Faculty of Medical Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

### Article Info

**Article type:**  
Research article

**Article History:**  
Received: 08 June 2021  
Revised: 21 February 2021  
Accepted: 05 December 2021

**\* Correspondence to:**

Amin Talebi Bezmin Abadi  
Dept of Bacteriology, Faculty  
of Medical Sciences, Tarbiat  
Modares University, Tehran, Iran  
Email:  
Amin.talebi@modares.ac.ir

### ABSTRACT

**Introduction:** This descriptive cross-sectional study examined the association between the presence of four non-Helicobacter-pylori bacterial species (e.g., Staphylococcus aureus, Lactobacillus acidophilus, Pseudomonas aeruginosa, and Streptococcus sanguis) and dyspepsia.

**Material & Methods:** This study included a total of 100 antral biopsy samples isolated from dyspeptic (n=50) or non-dyspeptic (healthy control) (n=50) patients referred to Mehrad and Labafinejad Hospitals, Tehran, Iran, in 2018. Following that, the presence of Staphylococcus aureus, Lactobacillus acidophilus, Pseudomonas aeruginosa, and Streptococcus sanguis was investigated by PCR and using their respective primers, including nuc, PA431CF, iga, and 16s rRNA.

Ethics Code (IR.MODARES.REC.1397.241).

**Findings:** In this study, a total of 50 antral biopsies were isolated from patients with dyspepsia, and 50 antral biopsy specimens were isolated from individuals without dyspepsia during endoscopy. The mean age of the subjects was 48 years (age range: 16-80 years); moreover, the highest age group belonged to the group of 26-46 (24%) years, and the lowest age belonged to the group of 16-26 years (0.06%). The age ranges used in this study had a relatively good population distribution. According to the results of the PCR test, the prevalence rates of Staphylococcus aureus, Lactobacillus acidophilus, Pseudomonas aeruginosa, and Streptococcus sanguis in dyspeptic patients (n=50) were 23 (46%), 3 (6%), 42 (84%), and 0 (0%), respectively. Moreover, the corresponding prevalence values were 19 (38%), 10 (20%), 45 (90%), and 2 (4%) among the non-dyspeptic control individuals. The presence of these bacteria showed no statistically significant association with the incidence of dyspepsia (P>0.05).

**Discussion & Conclusion:** Bacterial species living in this area can be highly diverse, and therefore, in addition to other epigenetic involved factors, the studying of other factors, such as environment, nutrition, lifestyle, and the host's genetic, will increase our understanding of the pathogenesis of this complex disorder.



**Keywords:** Colonization, Dyspepsia, Gastric microbiota, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus

### ► How to cite this paper

Mohammadi M, Talebi Abadi A, Rahimi F, Forootan M. Relationship of Bacteria Isolated from Antral Gastric Biopsy with the Incidence of Dyspepsia in Patients Referred to Mehrad and Labbafinejad Hospitals, Tehran, Iran, in 2018. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;30(1): 85-94.



## بررسی ارتباط باکتری‌های جدا شده از بیوپسی آنترال معده با بروز عارضه سوءهاضمه در مراجعه‌کنندگان به بیمارستان‌های مهاد و لبافی‌نژاد تهران در سال ۱۳۹۷

مهناز محمدی<sup>۱</sup> , امین طالبی بزمین آبادی<sup>۱\*</sup> , فرید رحیمی<sup>۲</sup>، مژگان فروتن<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه باکتری‌شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشکده تحقیقات زیستی، دانشگاه کانبرا، کانبرا، استرالیا

<sup>۳</sup> گروه گوارش و کبد، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

#### نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۸

تاریخ داوری: ۱۳۹۹/۱۲/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۴

#### نویسنده مسئول:

امین طالبی بزمین آبادی

گروه باکتری‌شناسی، دانشکده

علوم پزشکی، دانشگاه تربیت

مدرس، تهران، ایران

Email:

Amin.talebi@modares.ac.ir

**مقدمه:** در این مطالعه توصیفی-مقطعی، ارتباط میان حضور چهار باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس سانگوتیس) و بروز سوءهاضمه بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** در این تحقیق، ۱۰۰ نمونه بیوپسی آنترال جدا شده از مبتلایان به سوءهاضمه (N=50) و افراد بدون سوءهاضمه (N=50) که به بیمارستان‌های مهاد و لبافی‌نژاد تهران در سال ۱۳۹۷ مراجعه کرده بودند، جمع‌آوری و حضور گونه‌های باکتریایی استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس سانگوتیس به روش PCR و به کمک پرایمرهای اختصاصی iga، PA431CF.nuc و 16s-rRNA بررسی گردید. مجوز اخلاقی این طرح نیز با کد اخلاق IR.MODARES.REC.1397.241، پیش از انجام پژوهش با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه اخذ شد.

**یافته‌ها:** در این تحقیق، در مجموع ۵۰ بیوپسی آنترال از مراجعه‌کنندگان دچار سوءهاضمه و ۵۰ نمونه بیوپسی آنترال از افراد بدون سوءهاضمه طی عمل آندوسکوپی برداشته شد. میانگین سنی افراد ۴۸ سال (دامنه سنی ۱۶ تا ۸۰ سال) و بیشترین رده سنی مربوط به گروه ۴۶-۲۶ (۲۴ درصد) و کمترین میزان مربوط به گروه ۲۶-۱۶ سال (۰/۰۶ درصد) بود. دامنه سنی استفاده شده در این بررسی، توزیع جمعیتی نسبتاً مناسبی داشت. بر اساس یافته‌های بررسی PCR، فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس سانگوتیس در میان ۵۰ نفر مبتلا به سوءهاضمه به ترتیب ۲۳ (۴۶ درصد)، ۳ (۶ درصد)، ۴۲ (۸۴ درصد) و ۰ (۰ درصد) گزارش شده است. این مقادیر در گروه کنترل بررسی ما، به ترتیب معادل ۱۹ (۳۸ درصد)، ۱۰ (۲۰ درصد)، ۴۵ (۹۰ درصد) و ۲ (۴ درصد) مشخص گردیده است. بر اساس آنالیز آماری صورت گرفته، هیچ‌گونه رابطه معناداری میان حضور این ۴ گونه باکتریایی و بروز سوءهاضمه مشاهده نشد ( $P>0.05$ ).

**بحث و نتیجه‌گیری:** گونه‌های باکتری ساکن این ناحیه می‌تواند از تنوع بالایی برخوردار باشد و بنابراین، در کنار سایر عوامل ای‌ژنتیکی درگیر، آنالیز عوامل محیطی نظیر تغذیه، سبک زندگی و نیز ژنتیک می‌تواند در افزایش دانش ما از این حوزه پیچیده مؤثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، میکروبیوتای معده، سوءهاضمه، کلونیزاسیون

**استناد:** محمدی، مهناز؛ طالبی بزمین آبادی، امین؛ رحیمی، فرید؛ فروتن، مژگان. بررسی ارتباط باکتری‌های جدا شده از بیوپسی آنترال معده با بروز عارضه

سوءهاضمه در مراجعه‌کنندگان به بیمارستان‌های مهاد و لبافی‌نژاد تهران در سال ۱۳۹۷. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، اردیبهشت ۱۴۰۱؛ ۳۰(۱): ۹۴-۸۵.



در سه دهه اخیر، این باور در میان متخصصان گوارش و نیز میکروبی‌شناسان پذیرفته شده است که معده انسان به علت دارا بودن شرایط اسیدی نمی‌تواند مکان مناسبی برای رشد و نمو میکروارگانیسم‌ها باشد. این باور عمومی با کشف هلیکوباکتر پیلوری از سوی باری مارشال و همکارانش در سال ۱۹۸۴، تا حد فراوانی زیر سؤال رفت و این اتفاق بزرگ نقطه آغازی برای موج جدیدی از تحقیقات پایه و بالینی در این حوزه از علوم پزشکی شد (۱). نتایج مطالعات پیشین بر پایه کشت باکتری‌ها و شناسایی آن‌ها بر اساس تست‌های بیوشیمیایی، نشان‌دهنده حضور تعداد 103 CFU/g باکتری در محیط معده انسان بود (۲). در سال‌های اخیر، با پیشرفت فن‌های شناسایی میکروارگانیسم‌ها مشخص گردید که حتی معده افراد سالم هم می‌تواند میزبان میکروارگانیسم‌ها با تعداد و تنوع بالایی باشد (۳).

بر اساس مطالعات، باکتری‌های شناسایی شده در معده انسان بیشتر به فیلوم پروتوباکتری‌ها، فیرمیکوت‌ها، اکتینوباکتری‌ها و فوزوباکتریوم‌ها تعلق دارد و با جمعیت میکروبی دهان و مری کاملاً متفاوت است (۵، ۶). در این میان، به سایر باکتری‌هایی نیز می‌توان اشاره کرد که حضورشان در معده انسان تأیید شده است؛ مانند استریپتوکوکوس و استافیلوکوکوس (۴). سوءهاضمه (دیس‌پپزی) به‌عنوان عارضه‌ای تعریف می‌شود که از ناحیه گاستروئودونال و در غیاب هرگونه بیماری متابولیک مشاهده می‌گردد. پرواضح است که سوءهاضمه به‌تنهایی یک بیماری فیزیولوژیک به‌شمار نمی‌رود و در علم پزشکی، برای مجموع شکایاتی که از ناخوشی‌های نیمه فوقانی لوله گوارش انسان منشأ می‌گیرد، به‌طور عام، واژه سوءهاضمه را به کار می‌برند. ازجمله شایع‌ترین علائم سوءهاضمه می‌توان به درد اپی‌گاستریک و سوزش (در ۶۰ الی ۷۰ درصد موارد)، نفخ (۸۰ درصد)، سیری (۷۰-۶۰ درصد)، انبساط ناحیه اپی‌گاستریک (۸۰ درصد)، بی‌حالی (۶۰ درصد) و استفراغ (۴۰ درصد) اشاره کرد. از

سوی دیگر، باید در نظر داشت که علائم سوءهاضمه به‌صورت حاد یا مزمن هم می‌تواند بروز کند (۵). پاتوفیزیولوژی سوءهاضمه تاکنون به‌صورت دقیق مشخص نشده است؛ ولی ازجمله سازوکارهای اصلی منجر به این عارضه، می‌توان به تأخیر در تخلیه معده و حساس شدن شدید احشا اشاره داشت. تخلیه آهسته و تأخیری معده به طولانی شدن ماندگاری غذای بلعی در معده و درنهایت، تسهیل امکان تغییر میکروبیوتای آن ناحیه منجر می‌گردد. از طرفی نیز، بسیاری از افرادی که از سوءهاضمه رنج می‌برند، تحمل چربی پائینی دارند و بیشتر به مصرف غذاهای غنی از کربوهیدرات متمایل‌اند. به نظر می‌رسد تغییر در رژیم غذایی این افراد می‌تواند با تغییر ترکیب میکروبیوم معده، زمینه را برای بهبودی افراد فراهم سازد. از سویی هم باید دقت داشت که بی‌شک پیدایش برخی پلیمورف‌های ژنتیکی در میزبان نیز قادر است زمینه ابتلای افراد به این عارضه را افزایش می‌دهد. سبک زندگی مدرن امروزی بشر از دیگر مواردی است که از آن به‌عنوان یک ریسک‌فاکتور بالقوه در مستعدسازی افراد به این گروه از ناخوشی‌های گوارشی نام برده می‌شود. درنهایت، ضمن تغییرات احتمالی در میکروبیوتای معده آن‌هم از طریق فعالیت متابولیکی میکروبیوتای لومن و موکوس در پاتوژنز و پاتوفیزیولوژی سوءهاضمه نقش بارزی ایفا می‌شود و این پدیده می‌تواند بر کنش و واکنش‌های میان دستگاه ایمنی- میکروبیوم بر میزبان تأثیر بگذارد (۶).

تاکنون، تجویز آنتی‌بیوتیک و هدف قرار دادن هلیکوباکتر پیلوری در درمان علائم سوءهاضمه در میان برخی افراد اثرگذار بوده است؛ اما باید توجه کرد که صرفاً بهبودی علائم به علت حذف هلیکوباکتر پیلوری نیست و تغییر میکروبیوتای معده نیز می‌تواند در تعدیل علائم بالینی گوارشی تأثیرگذار باشد. به‌هرحال، آنچه به‌عنوان موضوعی بدیع در این تحقیق به آن توجه شده، بررسی حضور سایر میکروارگانیسم‌ها، غیر از هلیکوباکتر

پیلوری است و امید می‌رود در این پژوهش بتوان به نقش سایر میکروب‌های ساکن دائم یا گذرا در معده پی برد. در این مطالعه، به بررسی ۴ گونه باکتریایی شامل استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس سانگوئیس جداسده از نمونه‌های بیوپسی آنترال مراجعه‌کنندگان به کلینیک‌های گوارشی دو بیمارستان یادشده در شهر تهران در سال ۱۳۹۷ پرداخته شده است که سوءهاضمه داشتند.

### مواد و روش‌ها

جمعیت پژوهش: در این مطالعه توصیفی-مقطعی که به مدت ۱۲ ماه به طول انجامید، در مجموع، ۱۰۰ بیوپسی آنترال از ۱۰۰ نفری که به بخش آندوسکوپی بیمارستان مهراد و لبافی‌نژاد تهران مراجعه کرده بودند، در سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری گردید. مجوز اخلاقی این طرح نیز با کد اخلاق بین‌المللی JR.MODARES.REC.1397.241، پیش از انجام پژوهش با تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه اخذ شد. در این تحقیق، در قالب پرسش‌نامه‌های استاندارد، همه اطلاعات درباره سن، جنس، سابقه ابتلا به ناراحتی‌های گوارشی، سابقه درمان ضد هلیکوباکتر پیلوری، استفاده از پروبیوتیک و داروهای استفاده‌شده از بیماران گرفته و حین دریافت رضایت‌نامه آگاهانه کتبی از ایشان، به‌طور محرمانه کدبندی و در محل مشخص نگهداری شد؛ همچنین پرسش‌های مربوط به یافته‌های آندوسکوپی قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش (مری، معده و دئودنوم) از سوی پزشک متخصص و با توجه به گزارش‌های پاتولوژی تکمیل گردید و برای آنالیز نهایی به آن‌ها استناد خواهد شد. بر اساس توصیه مشاور بالینی این پژوهش، بیمارانی که دو ماه اخیر از داروهای آنتی‌بیوتیک و پروبیوتیک استفاده کرده‌اند، از مطالعه خارج گردیدند (معیارهای خروج). به این منظور، افراد باردار و با فشارخون بالا نیز از ورود به مطالعه منع شدند. نمونه‌های بیوپسی از سوی پزشک فوق تخصص گوارش و کبد بالغین توسط اسکوپ استریل از بخش آنتروم معده

- حدوداً ۲ سانتی‌متر دورتر از دریچه پیلور- برداشته و هر نمونه بیوپسی به‌صورت جداگانه در کرایوتیوب حاوی محیط انتقالی تایوگلیکولات (شرکت مرک آلمان) تحت دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، برای استخراج DNA ژنومیک باکتری و انجام تایپینگ به آزمایشگاه هلیکوباکتر دانشگاه تربیت مدرس منتقل گردید. در این بررسی، حجم نمونه با مشاوره متخصص آمار زیستی، ۵۰ نمونه مربوط به گروه دچار سوءهاضمه و ۵۰ نمونه مربوط به افراد بدون سوءهاضمه (به‌عنوان گروه کنترل بالینی) تعیین شد؛ همچنین برای اطمینان از صحت نتایج تایپینگ صورت‌گرفته، حدود ۱۰ درصد واکنش‌های PCR باز تکرار گردید که خوشبختانه تفاوتی در نتایج آن‌ها مشاهده نشد.

*استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR):*  
استخراج DNA از نمونه‌های بیوپسی از کیت استخراج DNA (روژه تکنولوژی، یزد، ایران) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. به‌منظور تأیید کیفیت و کمیت DNA به‌دست‌آمده، از روش اسپکتروفتومتری و اندازه‌گیری نسبت جذب نوری در طول‌موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ استفاده گردید. در صورت نزدیک بودن این نسبت به ۱/۸، کیفیت و کمیت DNA مطلوب در نظر گرفته شد. برای شناسایی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس سانگوئیس، از پرایمرهای اختصاصی طبق جدول شماره ۱ استفاده گردید. واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) بر حجم کل واکنش، معادل ۱۵ میکرولیتر حاوی ۱ میکرولیتر DNA الگو، ۶ میکرولیتر PCR Master Mix (Fermentas، لیتوانی)، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر (reverse و forward) و ۷ میکرولیتر آب مقطر استریل صورت گرفت. از نمونه بدون DNA الگو به‌عنوان Blank و از DNA سویه‌های استاندارد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ATCC A3556، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 و

منبع	محصول (جفت باز)	پروفایل دمایی	توالی (5'→3')	پرایمر	میکروارگانیزم
(۷)	۲۷۹	واسرشت ۹۵ درجه، ۶۰ ثانیه؛ اتصال پرایمر، ۶۲ درجه، ۵۵ ثانیه، ۳۵ سیکل، طول‌سازی: ۷۲ درجه، ۴۰ ثانیه	F:GCGATTGATGGTGATACGGTT R:AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	nuc	استافیلوکوکوس اورئوس
(۸)	۲۳۲	واسرشت ۹۵ درجه، ۶۰ ثانیه؛ اتصال پرایمر، ۵۵ درجه، ۳۰ ثانیه، ۳۵ سیکل، طول‌سازی: ۷۲ درجه، ۶۰ ثانیه	F:CTGGGTCGAAAAGGTGGTTGTTATC R:GCGGCTGGTGCGGCTGAGTC	PA431 CF	سودوموناس آئروژینوزا
(۹)	۲۷۳	واسرشت ۹۵ درجه، ۶۰ ثانیه؛ اتصال پرایمر، ۵۵ درجه، ۵۵ ثانیه، ۳۵ سیکل، طول‌سازی: ۷۲ درجه، ۳۰ ثانیه	F:TCTAAGGAAGCGAAGGAT R:CTCTTCTCGGTCGCTCTA	16S- rRNA	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
در این مطالعه	۳۸۳	واسرشت ۹۵ درجه، ۶۰ ثانیه؛ اتصال پرایمر، ۶۲ درجه، ۳۰ ثانیه، ۳۵ سیکل، طول‌سازی: ۷۲ درجه، ۳۰ ثانیه	F:TGTCGGGCTTGTTCGGCTG R:GTGCTAGTGTCCGGAGGAG	iga	استریتوکوکوس سانگوتیس

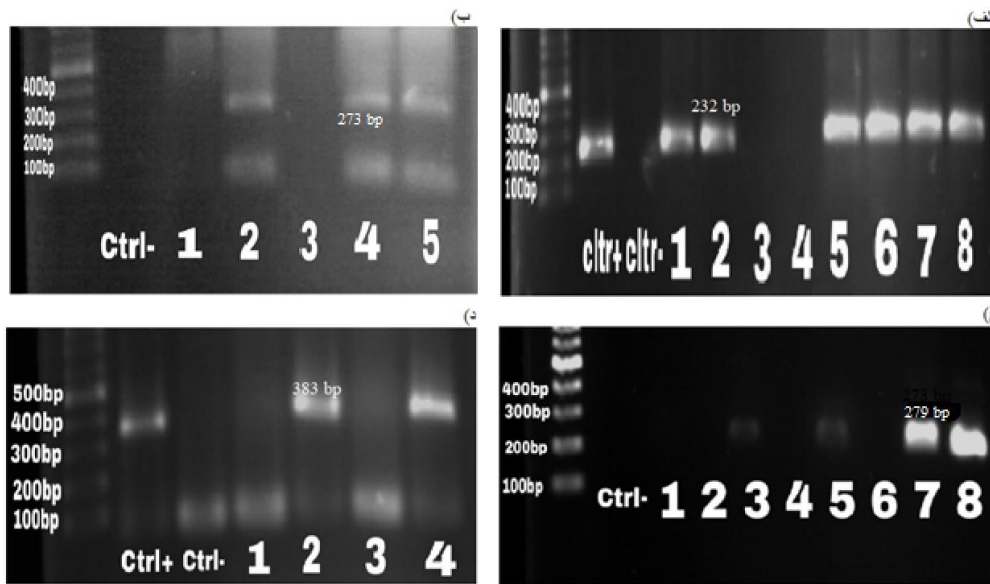
F: Forward; R: Reverse

### یافته‌ها

در این تحقیق، در مجموع ۵۰ بیوپسی آنترال از مراجعه‌کنندگان دچار سوءهاضمه و ۵۰ نمونه بیوپسی آنترال از افراد بدون سوءهاضمه طی عمل آندوسکوپی برداشته شد. میانگین سنی افراد ۴۸ سال (دامنه سنی ۱۶ تا ۸۰ سال) و بیشترین رده سنی مربوط به گروه ۴۶-۲۶ (۲۴ درصد) و کمترین میزان مربوط به گروه ۲۶-۱۶ سال (۰/۰۶ درصد) بود؛ همچنین ۷۰ درصد از افراد مطالعه شده زن بودند. به‌منظور بررسی حضور ۴ باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استریتوکوکوس سانگوتیس) در نمونه‌ها و تعیین ارتباط میان حضور آن‌ها و بروز بیماری‌های گوارشی در میان افراد دچار سوءهاضمه، روی نمونه‌ها روش مولکولی PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی هر باکتری صورت گرفت (شکل شماره ۱). با توجه به نتایج

استریتوکوکوس سانگوتیس ATCC 10556 به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. همه مراحل بالا زیر هود بیولوژیک تیپ ۲ و در شرایط استریل صورت پذیرفت. واکنش‌های حرارتی در دستگاه ترموسایکلر (BioRad، کالیفرنیا، آمریکا) انجام گردید و پروفایل حرارتی هر آزمون بر اساس جدول شماره ۱ تعیین و انجام شد. پس از به پایان رسیدن سیکل‌های حرارتی، محصولات نهایی PCR در کنار سایز مارکر، پس از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد در بافر TBE، با استفاده از دستگاه Gel Doc زیر نور UV تعیین و ثبت گردید.

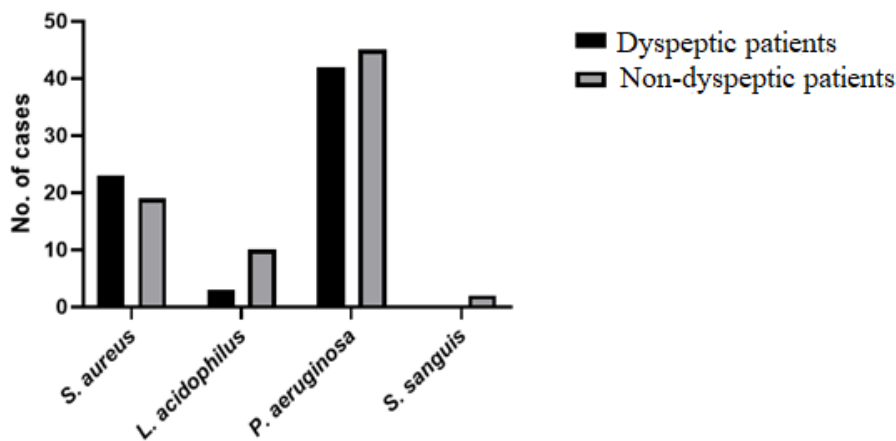
آنالیز آماری: به‌منظور بررسی ارتباط میان شیوع باکتری‌های بررسی شده در این مطالعه و سوءهاضمه، از آزمون T-test با نرم‌افزار آماری SPSS vol.18.0 استفاده گردید.  $P < 0.05$  نیز در این بررسی به‌عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.



**شکل شماره ۱.** باندهای به دست آمده از واکنش های PCR مربوط به الف. ژن PA431CF مربوط به باکتری سودوموناس آئروژینوزا، ب. ژن 16s rRNA باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، ج. ژن nuc باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و د. ژن iga استرپتوکوکوس سانگویی. از مارکر DNA 100bp استفاده گردید. نمونه های کنترل منفی (Ctrl-) بدون نمونه DNA و کنترل مثبت (Ctrl+) دارای DNA سویه های استاندارد (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ATCC A3556، استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 29213، سودوموناس آئروژینوزا ATCC 27853 و استرپتوکوکوس سانگویی ATCC 10556) بود.

بدون سوءهاضمه نیز به ترتیب ۱۹ (۳۸ درصد)، ۱۰ (۲۰ درصد)، ۴۵ (۹۰ درصد) و ۲ (۴ درصد) گزارش شده است (شکل شماره ۲). بر اساس آنالیز آماری صورت گرفته، هیچ گونه رابطه معناداری میان حضور این باکتری ها و بروز سوءهاضمه مشاهده نگردید ( $P>0.05$ ).

به دست آمده، شیوع باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس سانگویی در گروه افراد دچار سوءهاضمه به ترتیب ۲۳ (۴۶ درصد)، ۳ (۶ درصد)، ۴۲ (۸۴ درصد) و ۰ (۰ درصد) بود و این مقادیر در میان ۵۰ نفر



**شکل شماره ۲.** فراوانی نمونه های سویه های باکتریایی در بیماران دچار سوءهاضمه و افراد بدون سوءهاضمه

عارضه تاکنون پیشنهاد شده است که از میان آن ها می توان به عفونت حاد یا مزمن هلیکوباکتر پیلوری اشاره کرد. عفونت پاتوژن می تواند به التهاب موکوسی در معده

### بحث و نتیجه گیری

سوءهاضمه یکی از شایع ترین علل درد اپی گاستریک مزمن و ناراحتی معده است. علل گوناگونی برای این

گوارشی می‌تواند محیطی قابل‌بررسی برای حضور و شاید رشد سایر باکتری‌ها نیز باشد، نظیر آنچه در این تحقیق مشاهده شد. تحقیق ما به‌خوبی نشان داد که هر دو گروه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در معده افراد یافت می‌گردد. این یافته مهم‌ترین موضوعی است که در این بررسی به‌دست آمده و تا حدی ضعف این بررسی را که همان تعداد اندک نمونه بالینی ما باشد، پوشش داده است. بر اساس نتایج حاضر، باکتری‌های غالب در هر دو گروه مطالعه‌شده، به‌ترتیب سودوموناس آئروژینوزا (با شیوع کلی ۸۷ درصد) و استافیلوکوکوس اورئوس (با شیوع کلی ۴۲ درصد) بود؛ به‌عنوان مثال، در مطالعه مشابهی که پیرا و همکارانش در مصر انجام دادند، ۷۴ نمونه بیوپسی معده با استفاده از آندوسکوپي از ۲۱ بیمار دچار سوءهاضمه و ۵۳ بیمار بدون این عارضه بررسی و پس از کشت، ایزوله‌ها با روش MALDI-TOF آنالیز گردید. طبق نتایج این گروه، گونه‌های استافیلوکوکوس، استرپتوکوکوس و لاکتوباسیلوس شایع‌ترین ارگانسیم‌های جداشده بودند (۱۱). در این مطالعه، معده افراد دچار سوءهاضمه به‌ترتیب با استافیلوکوکوس و لاکتوباسیلوس کلونیزه شده بود، درحالی‌که در نمونه افراد بدون سوءهاضمه، میکروارگانسیم‌های غالب به‌ترتیب شامل استرپتوکوکوس استافیلوکوکوس و کلبسیلا بودند. در مطالعه آنان، تفاوت معنی‌داری میان شیوع ارگانسیم‌ها در دو گروه پژوهش مشاهده گردید و استافیلوکوکوس و لاکتوباسیلوس بیشتر در افراد دچار سوءهاضمه جدا شد، درحالی‌که استرپتوکوکوس، سودوموناس، اشرشیاکلی و کلبسیلا پنومونیه بیشتر در افراد بدون سوءهاضمه مشاهده گردید (۱۱).

در مطالعه دیگری که سالاما و همکارانش در سال ۲۰۱۸ در مصر انجام دادند، ۸۱ بیمار بررسی شدند که ۵۰ نمونه دچار سوءهاضمه و ۳۱ نمونه بدون سوءهاضمه بودند. در این تحقیق، همه بیماران آندوسکوپي گردیدند و ۴ بیوپسی معده از هر فرد برداشته شد. برای تشخیص باکتری‌ها نیز از روش MALDI-TOF استفاده گردید. بر

و دنودنوم و بروز اشکال در تحرکات و حساسیت گاستروئودونال منجر شود. گاستریت مزمن نیز می‌تواند در عملکردهای اندوکراین معده مانند تولید هورمون‌های معده‌ای-روده‌ای و انتقال‌دهنده‌های عصبی سوماتوستاتین، گاسترین و گرلین اختلال ایجاد کند. این اختلالات می‌تواند باعث بروز علائم در بیماران دچار سوءهاضمه گردد (۱۰). انتظار می‌رود که محیط اسیدی معده از رشد باکتری‌ها جلوگیری کند؛ اما رشد هلیکوباکتر پیلوری در موکوس معده نشان‌دهنده استریل نبودن محیط معده است. اخیراً مشخص شده است که غیر از هلیکوباکتر پیلوری، گونه‌های دیگر باکتریایی نیز از معده جدا شده‌اند که شاید بتوان بعضی از ناخوشی‌های گوارشی را به حضور این دسته از میکروارگانسیم‌ها نسبت داد. به‌هرحال، ضمن بروز اختلال در تعادل جمعیتی میکروبیوتای معده، پاسخ پیش‌التهابی دچار تغییر می‌شود و شانس شروع بیماری‌های دیگر افزایش می‌یابد (۴). در این مطالعه، برای اولین بار به بررسی نقش سایر باکتری‌ها، غیر از هلیکوباکتر پیلوری، در بروز بعضی از این ناخوشی‌های گوارشی پرداخته شده است.

مطالعه ما در پی پاسخ به این پرسش بود که آیا رابطه‌ای میان حضور باکتری‌هایی نظیر استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، استرپتوکوکوس سانگوتیس و سودوموناس آئروژینوزا و بروز سوءهاضمه وجود دارد یا خیر. بر اساس نتایج PCR به‌دست آمده در این تحقیق، شیوع شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، سودوموناس آئروژینوزا و استرپتوکوکوس سانگوتیس در میان ۵۰ بیمار دچار سوءهاضمه به‌ترتیب ۲۳ (۴۶ درصد)، ۳ (۶ درصد)، ۴۲ (۸۴ درصد) و ۰ (۰ درصد) بود و این مقادیر در میان ۵۰ فرد بدون این بیماری به‌ترتیب ۱۹ (۳۸ درصد)، ۱۰ (۲۰ درصد)، ۴۵ (۹۰ درصد) و ۲ (۴ درصد) بوده است. این یافته ابتدا مؤید شیوع برخی گونه‌های باکتریایی، غیر از هلیکوباکتر پیلوری، در مخاط معده است و البته اینکه معده افراد دچار سوءهاضمه و افراد بدون این مشکل

اساس نتایج آنان، حضور استافیلوکوکوس و لاکتوباسیلوس ارتباط معناداری با سوءهاضمه داشت و استرپتوکوکوس و کلبسیلا بیشتر در گروهی دیده شد که بدون علائم سوءهاضمه بودند (۱۲). نتایج این دو مطالعه با مطالعه حاضر تفاوت داشت که علت این اختلاف را می‌توان به تفاوت در تعداد حجم نمونه و مهم‌تر از آن، به اختلاف جمعیت مطالعه‌شده در دو بررسی نسبت داد؛ زیرا رژیم غذایی افراد مصری و ایرانی متفاوت است و رژیم غذایی بر تنوع حضور میکروارگانیسم دستگاه گوارشی تأثیر شگرفی دارد (۱۳)؛ همچنین باید اشاره کرد که سالاما و همکارانش از روش MALDI-TOF در تشخیص میکروارگانیسم‌ها استفاده نمودند که روشی بسیار وابسته به تخصص اپراتور است و کوچک‌ترین اشتباهی می‌تواند نتایج مثبت کاذب یا منفی را نشان دهد. بررسی ما به روش PCR بود که به کمک پرایمرهای اختصاصی، بالاترین حساسیت و اختصاصیت را برای ما فراهم آورده است. توجیه دیگر برای تفاوت مشاهده‌شده میان مطالعه حاضر و ۲ مورد بالا، همانا تفاوت‌های قابل‌انتظار ژنتیکی و سبک زندگی تا حد بسیار متفاوت دو جمعیت است. به‌هرحال، در هر مطالعه جامع و کاملی، بایستی همه ریسک‌فاکتورهای مرتبط با بروز سوءهاضمه را بررسی و درنهایت، نتیجه‌گیری قابل‌قبولی را ارائه کرد.

در سال ۲۰۰۹، لی و همکارانش میکروبیوتای معده را در پنج بیمار تعیین هویت کردند که گاستریت بدون هلیکوباکتر پیلوری داشتند و از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی استفاده نکرده بودند. نتایج آنان با استفاده از روش qPCR، نشان‌دهنده شیوع جنس‌های استرپتوکوکوس، لاکتوباسیلوس، هموفیلوس، استافیلو-کوکوس و نایسریا بود (۱۴). در پژوهش حاضر، ۴ جنس استرپتوکوکوس، لاکتوباسیلوس، استافیلوکوکوس و سودوموناس از ۱۰۰ بیوپسی معده شناسایی شده است. در سطح گونه، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس فراوان‌ترین گونه‌ها با درصد‌های ۸۷ درصد و ۴۲ درصد بود. البته این مطالعه نیز همانند بررسی ما، موفق به

ارائه وضعیت سایر ریسک‌فاکتورهای مؤثر بر بروز سوءهاضمه نشده بود.

در پژوهش کیایی و همکاران در سال ۱۳۸۵ مشخص گردید که لاکتوباسیلوس‌های جداسازی‌شده از ماست‌های محلی استان گلستان، بر طیف گسترده‌ای از باکتری‌های پاتوژن اثر داشته‌اند (۱۵). مطالعه کیایی و همکاران نشان داد که تشخیص سایر میکروارگانیسم‌هایی که ممکن است در معده کلونیزه شود، می‌تواند تحت تأثیر مصرف پروبیوتیک‌ها باشد و این امر در ارائه تابلوی بالینی افراد نیز می‌تواند مؤثر باشد. در بررسی ما، میزان مصرف ماست‌های پروبیوتیک نیز بررسی و در قالب پرسش‌نامه مشخص شده بود که به علت نیافتن ارتباط آماری معنادار، جزئیات بیشتر ارائه نگردید ( $P>0.05$ ).

در پژوهش ما، از مجموع ۱۰۰ بیوپسی آنترال، ۱۳ سویه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شناسایی شد که از این تعداد، ۳ سویه استافیلوکوکوس اورئوس نیز جدا گردید ( $P<0.05$ ). این یافته به‌خوبی نشان می‌دهد که وجود بعضی از باکتری‌ها می‌تواند بر الگوی پراکنش سایر میکروارگانیسم‌هایی که می‌توانند در مخاط گوارشی وجود داشته باشند، تأثیرگذار باشد و آن را به نحو معنی‌داری تغییر دهد. قابل اشاره است که این یافته می‌تواند بر نتیجه‌گیری نهایی این گونه از تحقیقات اثرگذار باشد و بنابراین، رویه صحیح علمی آن خواهد بود که به‌نوعی اثر آن در تحقیق را حذف و سپس به ارائه نتیجه اقدام کنیم. نتیجه‌گیری دیگری که ضمن این قیاس می‌توان انجام داد اینکه نقش تغذیه افراد را در این گونه از تحقیقات نمی‌توان نادیده گرفت. مسلماً همه این ریسک‌فاکتورهای شناخته‌شده در قالب یک الگوی مشخص در جمعیت‌های متنوع انسانی قادر است درنهایت، میزان احتمال ابتلای یک فرد به سوءهاضمه را تعیین کند.

نقطه قوت این مطالعه ابتدا این موضوع است که در حوزه‌ای وارد شده که تاکنون کمتر بدان توجه شده



بالینی صورت پذیرد، می‌تواند نقش میکروبیوتا در سلامت انسان را تا حدی فراوانی روشن سازد و مسلماً این قبیل مطالعات قادرند مورد توجه بیشتر متخصصان گوارش به منظور اصلاح رویکردهای درمانی و پیشگیرانه قرار گیرند. در صورت فراهم بودن امکانات Whole Genome Sequencing، نمونه‌های به‌دست آمده می‌تواند به‌تنهایی طیف وسیعی از اطلاعات باارزش ژنتیکی را برای تعیین فرضیات جدید در پژوهش‌های پیش‌رو روی میز محققان بگذارد.

### تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مادی و معنوی معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس و تحت پایان‌نامه کارشناسی ارشد انجام شده است.

کد اخلاق: IR.MODARES.REC.1397.241

## References

- Ouyang Y, Zhu Z, Huang L, Zeng C, Zhang L, Wu WK, et al. Research Trends on Clinical *Helicobacter pylori* Eradication A Bibliometric Analysis from 1983 to 2020. *Helicobacter*. 2021;e12835. doi: 10.1111/hel.12835.
- Doohan D, Rezkitha YAA, Waskito LA, Vilaichone R-k, Yamaoka Y, Miftahussurur M. Integrating microbiome, transcriptome and metabolome data to investigate gastric disease pathogenesis: a concise review. *Expert Reviews in Molecular Medicine*. 2021;23. doi: 10.1017/erm.2021.8.
- Abdi E, Latifi-Navid S, Abedi Sarvestani F, Esmailnejad MH. Emerging Therapeutic Targets for Gastric Cancer from a Host-*Helicobacter pylori* Interaction Perspective. *Expert Opin Ther Targets*. 2021; Aug;25:8:685-69. doi: 10.1080/14728222.2021.1971195.
- Pereira-Marques J, Ferreira RM, Machado JC, Figueiredo C. The influence of the gastric microbiota in gastric cancer development. *Best Pract & Res Clin Gastroenterology*. 2021;101734. doi: 10.1016/j.bpg.2021.101734.
- Madisich A, Andresen V, Enck P, Labenz J, Frieling T, Schemann M. The diagnosis and treatment of functional dyspepsia. *Dtsch Arztebl Int*. 2018;115:13:222. doi: 10.3238/arztebl.2018.0222.
- Zhong L, Shanahan ER, Raj A, Koloski NA, Fletcher L, Morrison M, et al. Dyspepsia and the microbiome: time to focus on the small intestine. *Gut*. 2017;66:6:1168-9. doi: 10.1136/gutjnl-2016-312574.
- Curran T, Coyle PV, McManus TE, Kidney J, Coulter WA. Evaluation of real-time PCR for the detection and quantification of bacteria in chronic obstructive pulmonary disease. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2007; 50:1:112-8doi: 10.1111/j.1574-695X.2007.00241.x.
- Choi HJ, Kim MH, Cho MS, Kim BK, Kim JY, Kim C, et al. Improved PCR for identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied microbiology and biotec*. 2013;97:8:3643-51. doi: 10.1007/s00253-013-4709-0
- Prasad J, Gill H, Smart J, Gopal PK. Selection and characterisation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *Int Dairy J*. 1998;8:12:993-1002. doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00024-2.
- Kunovsky L, Dite P, Jabandziev P, Dolina J, Vaculova J, Blahos M, et al. *Helicobacter pylori* infection and other bacteria in pancreatic cancer and autoimmune pancreatitis. *World J Gastrointest Oncol*. 2021;13:8:835. doi: 10.4251/wjgo.v13.i8.835.
- Pereira V, Abraham P, Nallapeta S, Shetty A. Gastric bacterial Flora in patients Harboring *Helicobacter pylori* with or without chronic dyspepsia: analysis with matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectroscopy. *BMC gastroenterology* 2018; 18:1:1-8. doi.org/10.1186/s12876-018-0744-8.
- Salama RI, Said NM, Said NM. Which Gastric Microbiota Associated with *H. pylori* in Dyspeptic Patients with Gastritis. *Open J Gas*. 2018;8:12:425. Doi:org/10.4236/ojgas.2018.812044

است. به‌هرحال، تغییرات میکروبی ساکنان روده بزرگ و کوچک بیشترین حجم مطالعات انجام‌شده را به خود اختصاص داده بود که ما برای اولین بار در این بررسی، به سراغ محیط اکولوژیکی معده رفتیم و تلاش کردیم در حد توان، از تعداد نمونه بالاتری برای نمونه‌گیری استفاده کنیم. باید دقت داشت که نتایج بررسی ما بیانگر آن است که ترکیب برخی باکتری‌های گرم مثبت و منفی می‌تواند در معده برای مدت طولانی کلونیزه شود و این امر سبب بروز بعضی از تظاهرات بالینی گوارشی گردد که بی‌شک بررسی‌های آینده می‌تواند پاسخگوی روشن شدن همه جوانب آن باشد. به‌طورکلی، شرایط سالم هر انسان ارتباط تنگاتنگی با حضور داشتن یا نداشتن بعضی از باکتری‌ها در دستگاه گوارش انسان دارد؛ از این‌رو، پیشنهاد بالقوه ما بررسی فراوانی همه میکروارگانیسم‌هایی است که قادرند در این منطقه، کلونیزاسیون موفق یا ناموفق داشته باشند. بی‌شک این پیشنهاد اگر با تعداد قابل‌قبولی از نمونه‌های

13. Hedayati MA, Khani D. Relationship of social risk factors and Helicobacter pylori infection with pathological characteristics of Gastric carcinoma. Iran J Med Microbiol. 2020;20:14:1. doi: 10.30699/ijmm.14.1.43.
14. Li X-X, Wong GL-H, To K-F, Wong VW-S, Lai LH, Chow DK-L, et al. Bacterial microbiota profiling in gastritis without Helicobacter pylori infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. PloS one. 2009;4:11:e7985doi: 10.1371/journal.pone.0007985.
15. Kiai E, Mozafari N, Samioladab H, Jandaghi N, Ghaemi E. Antagonistic effect of Lactic acid bacteria isolated from yogurt against pathogen bacteria. J Gorgan Univ Med Sci. 2006;8:1:28-33.