Co-colonization of non-Helicobacter Bacteria and *Helicobacter pylori* in Patients with Gastritis

Original Article

Seyedeh Zohre Mirbagheri[1], Masoud Alebouyeh[2#], Ronak Bakhtiari[3*#], Hashem Fakhre Yaseri[4], Marzieh Ghanbarian[5], Fatemeh Rezaei[5], Amir Ebrahimi[5]

[1]PhD in Medical Bacteriology, Department of Pathobiology, School of Public Health and Institute Health Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[2]Assistant Professor of Medical Bacteriology, Pediatric Infections Research Centre, Research Institute for Children's Health, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[3]Associate Professor of Medical Biochemistry, Department of Pathobiology, School of Public Health and Institute Health Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[4]Assistant Professor of Gastroenterology, Gastrointestinal and Liver Diseases Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[5]MSc in Medical Microbiology, Department of Pathobiology, School of Public Health and Institute Health Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

[#]These authors contributed equally to this study.

ABSTRACT

Background:

Understanding the bacterial community composition of gastric microbes and the relationship between its differences in the development and progression of gastritis can be of great help in the perception of the mechanism of this disease and designing preventive treatment pathways for its progression. We aimed to investigate the simultaneous colonization of bacterial agents in patients with chronic gastritis.

Materials and Methods:

The study was performed on 168 gastric biopsy specimens of patients with gastric complaints who were referred to the endoscopic ward of Firoozgar hospital in Tehran. Biopsy specimens in the pathology department were examined histologically by the hematoxylin-eosin staining method and in the specific culture medium of *Helicobacter* under microaerophilic growth conditions and in general culture medium under aerobic conditions for the presence of *Helicobacter* and other bacteria. Identification of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) isolates was performed by analyzing colony morphology, gram staining, positive reactions of oxidase and catalase, rapid urease test, and polymerase chain reaction (PCR). Other bacteria were identified by biochemical and phenotypical analysis.

Results:

In our study, the recovery rate of *H. pylori* infection was 27.4 %. The mean age of patients in the two groups with and without *H. pylori* infection was almost the same. 87.5% of all patients had chronic gastritis, which showed significant associations with *H. pylori* infection (*p-value*: 0.00). We identified 140 bacterial colonies that belonged to 12 genera and 3 phyla. At the genus level, *Streptococcus* and *Staphylococcus* were predominant followed by *Micrococcus*, *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter,* and *Providencia*. The predominant phyla were Proteobacteria and Firmicutes while Actinobacteria was less frequent. Co-infection of *H. pylori* with other isolated bacteria, especially *Streptococcus* and *Staphylococcus* was observed.

Conclusion:

The presence of different bacterial genera in the gastric tissue of patients with gastritis in the absence of *H. pylori* suggests their possible role in the occurrence or progression of this disease. Additional studies to determine the association of the persistence of these bacteria with the use of drugs that modulate gastric acidity and pathological changes can be useful in the prevention and treatment of gastritis.

Keywords:

Gastritis; *Helicobacter pylori*; Gastric microbiota

Please cite this paper as:

Mirbagheri SZ, Alebouyeh M, Bakhtiari R, Fakhre Yaseri H, Ghanbarian M, Rezaei F, et al. Co-colonization of non-helicobacter bacteria and helicobacter pylori in patients with gastritis. *Govaresh* 2022;27:17-24.

Corresponding author:

Ronak Bakhtiari

Department of Pathobiology, School of Public Health and Institute Health Research,

Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Tel: + 98 21 42933051

Email: rounakbakhtiari@yahoo.com

Received : 05 Jul. 2021

Edited: 01 Jan. 2022

Accepted: 02 Jan. 2022

مقاله پژوهشی

کلونیزاسیون همزمان باکتری های غیر هلیکو باکتر و هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به گاستریت

سیده زهره میرباقری[۱]، مسعود آل بویه[۲#]، روناک بختیاری[۳*#]، هاشم فخر یاسری[۴]، عباس رحیمی فروشانی[۵]، مرضیه قنبریان[۶]، فاطمه رضایی[۶]، امیر ابراهیمی[۶]

[۱]دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲]استادیار باکتری شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳]دانشیار بیوشیمی بالینی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۴]استادیار و فوق تخصص گوارش، مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد. دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
[۵]استاد آمار زیستی، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۶]کارشناسی ارشد میکروب شناسی پزشکی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

[#]این دو محقق بطور یکسان در این تحقیق همکاری داشته اند.

چکیده

زمینه و هدف:
شناخت الگوی جمعیتی میکروب های معده و ارتباط تفاوت های آن در ایجاد و پیشرفت گاستریت می تواند کمک زیادی به فهم مکانیسم ایجاد این بیماری و طراحی مسیرهای درمانی پیشگیرانه از پیشرفت آن کند. در این مطالعه تلاش شده است تا کلونیزاسیون همزمان عوامل باکتریایی در گروه بیماران دچار گاستریت مزمن مورد بررسی قرار بگیرد.

روش بررسی:
در این مطالعه، تعداد ۱۶۸ نمونه ی بیوپسی معده از بیماران مراجعه کننده به بخش گوارش بیمارستان فیروزگر تهران که دچار ناراحتی های گوارشی بودند جمع آوری گردید. نمونه های بیوپسی در بخش پاتولوژی با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین مورد بررسی هیستولوژیکی قرار گرفتند و در محیط کشت اختصاصی هلیکوباکتر تحت شرایط رشد میکروائروفیل و محیط کشت های بلاد آگار و مک کانکی آگار تحت شرایط هوازی از نظر حضور هلیکوباکتر پیلوری و سایر باکتری ها بررسی شدند. تعیین هویت ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری با استفاده از روش های تست اوره آز سریع، کشت و روش مولکولی PCR و تعیین هویت سایر باکتری ها توسط بررسی بیوشیمیایی و فنوتیپی انجام شد.

یافته ها:
در این مطالعه فراوانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۲۷/۴ درصد تخمین زده شد. میانگین سنی بیماران در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری تقریباً یکسان بود. ۸۷/۵ درصد از کل بیماران مبتلا به گاستریت مزمن بودند که بین وجود گاستریت مزمن و ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری از نظر آماری ارتباط معنادار بوده است (P-value:<۰.۰۰۱). از میان ۱۴۰ ایزوله از نمونه های بیوپسی معده بیماران مبتلا و غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری، باکتری های جدا شده متعلق به ۱۲ جنس و ۳ شاخه باکتریایی بودند. بیشترین باکتری های جدا شده بر حسب جنس به ترتیب شامل استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، اشرشیا کلی، باسیلوس، انتروکوکوس، کلبسیلا، سودوموناس، انتروباکتر، سیتروباکتر و پرووِیدنسیا بودند. شاخه های پروتئوباکتریا و فرمی کوتس غالب ترین و شاخه اکتینوباکتریا کمترین شاخه باکتریایی شناسایی شده بودند. همزمانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری با سایر باکتری های ایزوله شده بویژه با جنس های استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس دیده شد.

نتیجه گیری:
حضور جنس های مختلف باکتریایی در بافت معده بیماران مبتلا به گاستریت در غیاب هلیکوباکتر پیلوری پیشنهادکننده نقش احتمالی آنها در بروز یا پیشرفت این بیماری است. انجام مطالعات تکمیلی جهت تعیین ارتباط استقرار این باکتری ها با مصرف داروهای تعدیل کننده اسیدیته معده و تغییرات پاتولوژیک می تواند در پیشگیری و درمان بیماری گاستریت مفید باشد.

کلید واژه: گاستریت، هلیکوباکتر پیلوری، میکروبیوتای معده

گوارش/ دوره ۲۷، شماره ۱/ بهار ۱۴۰۱/ ۲۴-۱۷

***نویسنده مسئول:** روناک بختیاری
گروه میکروب شناسی پزشکی، بخش پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تلفن: ۰۲۱-۴۲۹۳۳۰۵۱
پست الکترونیک: rounakbakhtiari@yahoo.com
تاریخ دریافت : ۱۴۰۰/۴/۱۴
تاریخ اصلاح نهایی : ۱۴۰۰/۱۰/۱۱
تاریخ پذیرش : ۱۴۰۰/۱۰/۱۲

زمینه و هدف:

گاستریت، یک بیماری شایع در بین جمعیت های مختلف انسانی می باشد. اگرچه این بیماری با استفاده از رژیم های درمانی قابل کنترل است، اما شکل مزمن آن می تواند منجر به سرطان شود. گاستریت یک بیماری پیچیده و چند فاکتوری است که در اتیولوژی آن عوامل محیطی مختلفی مانند سبک زندگی و عادت های غذایی، عفونت

ها بویژه عفونت با هلیکوباکتر پیلوری و عوامل ژنتیکی نقش بسیار مهمی دارند.(۱) باکتری هلیکوباکتر پیلوری، بعنوان یک کارسینوژن کلاس یک، می تواند از طریق مکانیسم های مختلفی مانند تغییرات هیستوپاتولوژیک بافت بواسطه ی فاکتورهای بیماریزایی، القا سیستم ایمنی و اینفیلتراسیون نوتروفیل ها و لنفوسیت ها و تولید سایتوکاین های پیش التهابی، تولید سوبستراهایی مانند آمونیاک، فسفولیپاز و سایتوکاین ها که می توانند با آسیب به اپی تلیوم بافت معده باعث افزایش خطر پیشرفت به سمت سرطانی شدن بافت شوند، باعث گاستریت و التهاب مزمن معده شود.(۲و۳) عفونت با هلیکوباکتر پیلوری در زمان کودکی اتفاق می افتد و ممکن است در طول زندگی برای سال ها در محیط معده بصورت خاموش باقی بماند. عفونت و ناهنجاری های پاتوفیزیولوژیک درگاستریت مزمن می تواند منجر به از بین رفتن غدد عملکردی (آتروفی) و جایگزینی غده طبیعی و اپی تلیوم فاولار با سلول های نوع روده ای، متاپلازی روده و بعد دیسپلازی و سرطان شود.(۴) این باکتری همچنین می تواند باعث بیماری های دیگری مانند زخم های معده و دئودنال (Duodenal ulcer) و زخم پپتیک (Peptic ulcer)، فاکتور خطر مهمی برای توسعه آدنوکارسینوم معده (Gastric adenocarcinoma) و لنفوم سلول های B (B Cell Lymphoma) در بافت لنفوئیدی مخاط معده یا سایر موارد مانند استوماتیت آفتی عود کننده، کم خونی، تغییر سطح سرمی لیپوپروتئین ها و آرترواسکلروز کرونر در برخی از بیماران شود.(۸-۴)

پیش از این، محیط اسیدی معده و حرکات پریستالتیک آن، همراه با قابلیت پایین کشت باکتری های موجود در آن منجر به ایجاد این فرضیه شده بود که شرایط موجود در محیط معده قادر به حمایت از جمعیت های میکروبی متنوع نیست و از این رو به عنوان یک ارگان استریل در نظر گرفته می شد، اما اکنون مشخص شده است که چندین میکروارگانیسم کومنسال (میکروبیوتا) در معده کلونیزه می شوند و همچنین در این محل اینتراکشن های پیچیده ای بین این پاتوژن های کومنسال و هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد (۹).

امروزه با استفاده از تکنیک های مولکولی پیشرفته مانند تعیین توالی کامل ژنوم با روش Pyrosequencing، آنالیز متاژنومیک و تعیین توالی *16S rDNA* و آنالیزهای مولکولی مشخص شده است که در شرایط سلامت بدن عمده جنس های باکتریایی میکروبیوم معده انسان، شامل *Prevotella*، *Streptococcus*، *Rothia*، *Pasteurellaceae*، *Fusobacterium*، *Actinomyces*، *Neisseria*، *Haemophilus* و *Porphyromonas* می باشند و تفاوت قابل ملاحظه ای بین میکروبیوم بخش آنتروم معده با بخش کورپوس آن ها وجود ندارد (۱۲-۱۰).

میکروبیوم معده از جنبه های مختلفی در سلامت انسان نقش دارند، اما بر هم خوردن تعادل ترکیبات میکروبیوم معده (dysbiosis) می تواند با افزایش هایپرپلازی و القا التهاب، افزایش تکثیر سلولی، تغییر دینامیک های سلول های بنیادی و تولید متابولیت هایی مانند بوتیرات بر DNA و تنظیم ایمنی اثر گذاشته و موجب افزایش سرطانزایی شود (۱۳). هلیکوباکتر پیلوری شروع کننده ی اصلی تغییرات هیستولوژیکی در بافت معده است و بر اساس مشاهدات، مشارکت میکروبیوتای معده در افراد عفونی شده با هلیکوباکتر پیلوری ممکن است در ایجاد و پیشرفت بیماری به سمت سرطان معده نقش داشته باشند (۱۴). با توجه به این که در بعضی از نقاط جهان نیز با وجود کاهش میزان عفونت هلیکوباکتر پیلوری، همچنان افزایش شیوع گاستریت و سرطان معده گزارش شده است (۱۵) و سهم و نقش میکروبیوم معده و متابولیت های حاصل از آنها و ارتباط این تفاوت های جمعیتی بویژه در بافت های مربوط به فازهای پیش بدخیمی مانند گاستریت در ایجاد و پیشرفت سرطان معده که می تواند کمک زیادی به فهم مکانیسم این بیماری و طراحی مسیرهای درمانی پیشگیرانه کند، تا حد زیادی نامشخص مانده است و بعلاوه تاکنون در ایران جمعیت و ترکیب میکروبیوتای معده و اثر سینرژیستیک آنها با عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران با مرحله هیستولوژیکی گاستریت مزمن بررسی نشده است، در این مطالعه تلاش شده است تا کلونیزاسیون همزمان عوامل باکتریایی در بافت معده بیماران دچار گاستریت مزمن مورد بررسی قرار بگیرد.

روش بررسی

جمعیت مورد مطالعه و جمع آوری نمونه ها

در این مطالعه، تعداد ۱۶۸ نمونه ی بیوپسی معده از بیماران با ناراحتی های گوارشی مراجعه کننده به بخش گوارش بیمارستان فیروزگر تهران از بهمن ماه ۱۳۹۷ تا شهریور ماه ۱۳۹۸، جمع آوری گردید. از هر بیمار ۲ نمونه ی بیوپسی از بخش آنتروم معده گرفته شد. یک نمونه ی بیوپسی هر بیمار جهت بررسی پاتولوژی به آزمایشگاه پاتولوژی بیمارستان و نمونه ی دیگر به ۲ قسمت تقسیم شد، یک قسمت از آن در محیط ترانسپورت تایوگلیکولات (مرک، آلمان) دارای ۱/۳ گرم بر لیتر آگار و ۳ ٪ عصاره مخمر (اکسوئید، انگلستان) جهت انجام کشت و تست اوره آز و قسمت دیگر در کرایوتیوب جهت استخراج DNA، به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انتقال داده شدند. اطلاعات دموگرافیک و بالینی بیماران نیز در فرم پرسشنامه ثبت گردید. این مطالعه توسط کمیته اخلاق مرکز تحقیقات در دانشگاه علوم پزشکی تهران تأیید شده است (IR.TUMS.SPH.REC.۱۳۹۸,۱۶۷ ۱۳۹۸/۷/۳) و رضایت آگاهانه از همه بیماران یا سرپرستان آنها اخذ گردید.

بررسی یافته های اندوسکوپیک و پاتولوژیک

نمونه های بیوپسی در بخش پاتولوژی با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین مورد بررسی هیستولوژیکی قرار گرفتند و مرحله پاتولوژیکی بیماران بر اساس پارامترهای بافتی و درجه بندی گاستریت (updated Sydney System)، تفسیر و طبقه بندی شدند.

تست اوره آز سریع

قبل از انجام آزمایشات فنوتیپی، با استفاده از هموژنایزر دستی نمونه های بیوپسی قطعه قطعه و کاملاً له شده و از آن جهت انجام مراحل بعدی آزمایشات فنوتیپی استفاده شد. جهت انجام این تست از محیط اوره حاوی آب مقطر استریل، کریستال اوره (مرک، آلمان) و فنل رد (مرک، آلمان) به عنوان معرف (pH:6.8) استفاده شد. بعد از تلقیح مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول هموژنایز نمونه، تغییر رنگ محیط از زرد (اسیدی) به قرمز (قلیایی) طی مدت ۲۴ ساعت بررسی شد. تغییر رنگ محیط به قرمز نشاندهنده تجزیه اوره توسط آنزیم اوره آز باکتری و تولید آمونیاک و مثبت بودن این تست می باشد.

کشت و جداسازی ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری

جهت کشت نمونه ها، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول هموژنایز نمونه به روی سطح پلیت های شامل محیط کشت اختصاصی بروسلاآگار (مرک، آلمان) دارای ۱۰ ٪ خون گوسفند، ۱۰ ٪ سرم جنین گاوی (FCS)، مکمل های انتخابی کمپیلوباکتر (ونکومایسین، پلی میکسین و تری متوپریم) و آمفوتریسین B تلقیح شده و با روش چهارمنطقه ای کشت داده شدند. سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و تحت شرایط میکروآئروفیلیک (N_2 ٪۸۵, CO_2 ٪۱۰, O_2 ٪۵) به مدت ۳ تا ۷ روز انکوبه شدند. در نهایت، کلنی های مات، بدون پیگمان به قطر ۱ میلی متر و مشکوک به هلیکوباکتر پیلوری، با استفاده از روش های افتراقی و بیوشیمیایی شامل رنگ آمیزی گرم و مشاهده باسیل های گرم منفی خمیده، تست اکسیداز و کاتالاز مثبت و تست اوره آز سریع تعیین هویت شدند.

تأیید ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری با روش مولکولی

جهت انجام آزمایش مولکولی، ابتدا DNA ژنومیک ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری با استفاده از روش استفاده شده توسط دورقی و همکاران استخراج گردید (۱۶). بطور خلاصه، بعد از کشت ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری، کلونی ها در ۱ میلی لیتر PBS حل شدند و به مدت ۵ دقیقه در دور ۶۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. پلت های حاصل شده در ۵۰ mM/L NaOH حل شدند و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد جوشانده شدند. بعد از انجام quick spin و انکوباسیون به مدت ۱۰ دقیقه در ۱ M Tris-HCl, pH ۷,۵، به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. سوپرناتانت حاصل حاوی DNA ژنومیک بوده که در دمای ۲۰- سانتی گراد، جهت انجام آزمایشات مولکولی ذخیره شدند. آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ژن *glmM* بر روی DNA های استخراج شده انجام گرفت (۱۷). به منظور مشاهده محصولات PCR از ژل اگارز ۱/۵ درصد و نور ماورابنفش (UV) در دستگاه Gel Documentation Uvitec استفاده شد.

کشت و جداسازی ایزوله های غیر هلیکوباکتر هوازی

در این مرحله، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محلول هموژنایز نمونه به روی سطح هر یک از محیط های بلادآگار و مک کانکی آگار تلقیح شده و با روش چهارمنطقه ای کشت داده شدند. سپس این محیط ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند. در نهایت کلونی های رشد کرده بر روی این محیط ها با استفاده از تست های افتراقی و بیوشیمیایی، در سطح جنس شناسایی شدند.

آنالیز آماری

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده های به دست آمده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ استفاده گردید. ارتباط بین حضور باکتری های جدا شده در دو گروه بیماران با آزمون کای دو بررسی گردید. در این مطالعه سطح معناداری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

در این مطالعه، مجموع ۱۶۸ نمونه ی بیوپسی آنتروم معده از ۱۶۸ بیمار دارای سوء هاضمه جمع آوری گردید. با توجه به نتایج حاصل از آزمایشات فنوتیپی شامل کشت و روش های بیوشیمیایی و آزمایش PCR، بیماران در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری طبقه بندی شدند. فراوانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۲۷/۴ درصد (۴۶ بیمار از ۱۶۸ بیمار) تخمین زده شد. رنج سنی بیماران ۱۷ تا ۸۶ سال و با میانگین ۴۶/۰۱ بوده است. میانگین سنی بیماران در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری تقریباً یکسان بود. از تعداد کل بیماران، ۶۹ بیمار (۴۱/۱ ٪) مرد و ۹۹ بیمار (۵۸/۹۹ ٪) زن بودند که میانگین نسبت زنان و مردان مبتلا به این باکتری تقریباً یکسان بوده است (به ترتیب ۴۷/۸ ٪ و ۵۲/۲ ٪). به جز ۴ بیمار (۲/۴ ٪) که دارای ملیت افغان بوده اند بقیه بیماران همگی ایرانی بوده اند. درصد افراد استعمال کننده سیگار و الکل در کل بیماران به ترتیب ۱۴/۲ ٪ و ۸/۳ ٪ بود که در بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری (به ترتیب ۱۹/۶ ٪ و ۱۷/۴ ٪) نسبت به گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری (به ترتیب ۱۳/۱۱ ٪ و ۳/۲۷ ٪) بیشتر بوده است.

در جدول ۱، ویژگی های پاتولوژیک و هیستولوژیک بیماران در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری نشان داده شده است. با تجزیه و تحلیل یافته های پاتولوژیک و هیستولوژیک نمونه های بیوپسی مشخص شد که ۸۷/۵ درصد (۱۴۷/۱۶۸) از کل بیماران مبتلا به گاستریت مزمن بودند که بین وجود گاستریت مزمن و ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری از نظر آماری ارتباط معنادار بوده است

جدول ۱: ویژگی های پاتولوژیک و هیستولوژیک بیماران در دو گروه بیماران مبتلا و غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری

H. pylori status	Chronic gastritis			Acute gastritis	Cancer	normal	Erosion	Active	Atrophy	Intestinal	Dysplasia
	Mild	Moderate	Sever								
H.pylori posistive N= 46	13 28.3	30 65.2	2 4.3 (%)	0	1 (2.2%)	1 (2.2%)	31 (67.4%)	32 (69.6%)	2 (4.3%)	4 (8.7%)	1 (2.9%)
H.pylori negative N=122	76 62.2	31 25.4	2 1.6 (%)	6 (4.9 %)	0	0	65 53.3 %	39 32 %	2 1.7 %	14 11.47 %	0
Toltal=168	89 52.4	61 36.3	4 2.3 (%)	6 3.57 %	1 0.6 %	1 0.6 %	96 57.1 %	71 42.3 %	4 2.4 %	18 10.7 %	1 0.6 %

(*P*-value: <۰.۰۰۱)،بیشتر موارد پاتولوژیک وجود Erosion، Atrophy و Active بودن گاستریت مزمن در گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری می باشد.

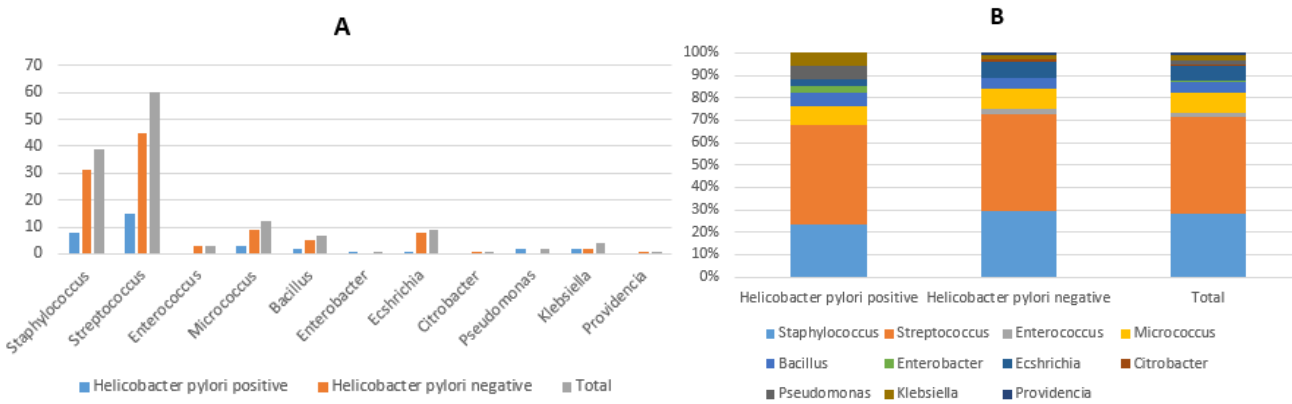
جنس های باکتریایی شناسایی شده بعد از انجام کشت و آزمایشات بیوشیمیایی نمونه های بیوپسی بیماران در دو گروه بیماران مبتلا و غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری در شکل ۱ ارائه شده است. در این مطالعه، تعداد ۱۴۰ ایزوله از باکتری های مختلف از بیماران با مشکلات گوارشی شامل ۳۴ ایزوله از نمونه های بیوپسی معده بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری و ۱۰۶ ایزوله از نمونه های بیوپسی معده بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری جدا شد. باکتری های جدا شده متعلق به ۱۲ جنس و ۳ شاخه باکتریایی بودند. بیشترین باکتری های جدا شده بر حسب جنس به ترتیب شامل استرپتوکوکوس، هلیکوباکتر، استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، اشرشیا، باسیلوس، انتروکوکوس، کلبسیلا، سودوموناس، انتروباکتر، سیتروباکتر و پرووییدنسیا بوده است. همزمانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری با سایر باکتری های ایزوله شده بویژه با جنس های استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس دیده شد. شاخه های پروتئوباکتریا وفرمی کوتس غالب ترین و شاخه اکتینوباکتریا کمترین شاخه باکتریایی شناسایی شده بودند.

استرپتوکوکوس و بعد از آن استافیلوکوکوس غالبترین جنس های باکتریایی شناسایی شده در کل بیماران و در دو گروه تحت بررسی بود. فراوانی بیشتری از این دو جنس باکتریایی در گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری نسبت به گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری شناسایی شد، که البته از نظر آماری معنادار نبود (دارای p valu به ترتیب ۰/۶ و ۰/۲۷). همزمانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری با سایر باکتری های ایزوله شده بویژه با جنس های استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس دیده شد. از طرفی جنس های باکتریایی انتروباکتر، سیتروباکتر و پرووییدنسیا دارای کمترین میزان فراوانی در کل بیماران بوده است. جنس های انتروکوکوس، سیتروباکتر و پرووییدنسیا در گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری جداسازی نشده اند در حالی که فراوانی آنها در گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری به ترتیب به میزان ۲/۵ ٪ (۳/۱۲۲)، ۰/۸ ٪ (۱/۱۲۲) و ۰/ ۸ ٪ (۱/۱۲۲) بوده است. جنس های باکتریایی انتروباکتر، سودوموناس و کلبسیلا در گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری جداسازی نشده اند اما در گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری به ترتیب به میزان ۲/۲ ٪ (۱/۴۶)،۴/۳ ٪ (۲/۴۶) و ۴/۳ ٪ (۲/۴۶) جداسازی شده است. فراوانی جنس های باکتریایی اشرشیاکلی، باسیلوس و میکروکوکوس در گروه بیماران غیر مبتلا نسبت به گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری بیشتر می باشد که از نظر آماری معنادار نبوده است. در کل، تعداد و تنوع جنس های باکتریایی جداسازی شده در گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری نسبت به گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری بیشتر بوده است.

بحث

گاستریت یک بیماری پیچیده و چند فاکتوری است که در اتیولوژی آن عوامل محیطی مختلفی مانند سبک زندگی و عادت های غذایی، عفونت ها بویژه عفونت با هلیکوباکتر پیلوری و عوامل ژنتیکی نقش بسیار مهمی دارند (۱). بعلاوه تا به امروز گزارشات متناقضی در خصوص نقش و ترکیب جمعیت های میکروبی معده در مبتلایان به بیماری های معده و افراد در حالت های مبتلا و غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری منتشر شده است ولی همچنان نقش و اهمیت اعضای این باکتری ها در گاستریت بعنوان یک مرحله ابتدایی و پیش بدخیمی مسیر سرطانزایی معده ناشناخته می باشد. از آنجاکه میکروبیوتای معده می تواند به عنوان یک ابزار تشخیص در شناسایی بیماران با ریسک توسعه و پیشرفت به سمت بیماری های شدیدتر معده مورد استفاده قرار بگیرند، در این مطالعه تلاش شده است تا با شناسایی ترکیب و جمعیت باکتریایی معده در بیماران مبتلا به گاستریت بر اساس روش کشت و آزمایش های بیوشیمیایی نمونه های بیوپسی بافت معده، اهمیت جنس های باکتریایی خاص و میانکنش تغییرات اعضای جمعیت باکتریایی معده در دو گروه بیماران دچار گاستریت مزمن مبتلا و غیرمبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری بررسی شود.

شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری در کشورهای درحال توسعه با شرایط اقتصادی و اجتماعی پایین و مدیریت ضعیف بهداشت آب آشامیدنی (بیش از ۸۰ ٪)، بسیار بیشتر از کشورهای توسعه یافته (کمتر از ۶۰ ٪) می باشد (۱۸). در مطالعه کنونی، فراوانی عفونت هلیکوباکتر



شکل ۱: فراوانی جنس های باکتریایی شناسایی شده در دو گروه بیماران مبتلا و غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری. A، فراوانی تعداد جنس های باکتریایی جدا شده از نمونه های بیماران در هر گروه. B، فراوانی درصد جنس های باکتریایی جدا شده از نمونه های بیماران در هر گروه.

پیلوری ۲۷/۴ درصد تخمین زده شد. در حالی که در مطالعه ی وزیری و همکاران در سال ۲۰۱۳، برابر ۴۰ ٪ و مطالعه ی یادگار و همکارانش در سال ۲۰۱۴ ، برابر ۴۸ ٪ گزارش شده بود (۱۷, ۱۹). همچنین در سایر مطالعات قبلی که در ایران انجام شده بود، میزان شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری بیشتر از مطالعه ما بوده است (۲۰, ۲۱). کمتر بودن میزان شیوع عفونت در مطالعه ما می تواند مبنی بر رو به کاهش بودن میزان عفونت هلیکوباکتر پیلوری و بهبود شرایط بهداشت در ایران باشد. میانگین نسبت زنان و مردان مبتلا به این باکتری تقریباً یکسان بوده است که نشاندهنده این است که جنسیت در میزان ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری نقشی ندارد. با توجه به اینکه درصد افراد استعمال کننده سیگار و الکل در بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری نسبت به گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری بیشتر بوده است، احتمالاً مصرف الکل و سیگار در افزایش ریسک ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری نقش دارد. ۸۷/۵ درصد از کل بیماران با علائم دیس پپسی مبتلا به گاستریت مزمن بودند و این شیوع بالای گاستریت مزمن را نشان می دهد. با توجه به اینکه در گروه مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری، اکثر موارد گاستریت مزمن از نوع Moderate (۶۵/۲ ٪) بودند و در گروه غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری، بیشترین نوع گاستریت مزمن از نوع Mild (۶۲/۲ ٪) بوده است و بعلاوه بیشتر موارد پاتولوژیک وجود Erosion، Atrophy و Active بودن گاستریت مزمن در گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری می باشد، می توان گفت که عفونت هلیکوباکتر پیلوری در پیشروی گاستریت از نوع ملایم به شدیدتر نقش دارد که ممکن است همراهی با سایر باکتری ها نیز حائز اهمیت باشد.

در این مطالعه، تعداد ۱۳۷ ایزوله باکتری از بیماران با مشکلات گوارشی شامل ۳۴ ایزوله از نمونه های بیوپسی معده بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری و۱۰۳ ایزوله از نمونه های بیوپسی معده بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری جدا شد. باکتری های جدا شده متعلق به ۱۲ جنس و ۳ شاخه باکتریایی بودند. بیشترین باکتری های جدا شده بر حسب جنس به ترتیب شامل استرپتوکوکوس، هلیکوباکتر، استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، اشرشیا، باسیلوس، انتروکوکوس، کلبسیلا، سودوموناس، انتروباکتر، سیتروباکتر و پرووویدنسیا بوده است. شاخه های پروتئوباکتریا وفرمی کوتس غالب ترین و شاخه اکتینوباکتریا کمترین شاخه باکتریایی شناسایی شده بودند. نتیجه حاصل شده از این مطالعه، مطابق با نتایج مطالعات قبلی است که حضور شاخه های باکتریایی پروتئوباکتریا، فرمی کوتس، اکتینوباکتریا و باکتروئیدس را گزارش کرده بودند (۲۴-۲۲). اما در مطالعه ما چون کشت باکتری های بی هوازی انجام نشده بود لذا شاخه باکتروئیدس جداسازی نشد.

استرپتوکوکوس و بعد از آن استافیلوکوکوس، غالب ترین جنس های باکتریایی شناسایی شده در کل بیماران بود. میزان فراوانی این دو جنس باکتریایی در گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری نسبت به گروه بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری بیشتر دیده شد. در مطالعه جینزلیو[1] و همکاران درسال ۲۰۱۸ و خسروی و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش شده است که برخی از گونه های استرپتوکوکوس باعث تبدیل هلیکوباکتر پیلوری به فرم کوکسی و مهار رشد آن می شود که این پدیده می تواند یکی از دلایل احتمالی افزایش فراوانی جنس استرپتوکوس در بیماران گاستریتی غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری باشد (۲۴, ۲۵). در مطالعاتی استرپتوکوکوس بعنوان عامل اتیولوژیک گاستریت ذکر شده است (۲۶و۲۷). علیرغم آنکه جایگاه طبیعی استرپتوکوکوس حفره دهانی و استافیلوکوکوس سطح بدن می باشد، میزان جداسازی بالای آن ها در بافت معده بیماران در این مطالعه می تواند نشاند دهنده این باشد که این باکتری ها تنها بعنوان یک باکتری گذرا نبوده و قادر به کلونیزاسیون معده هستند. همانطور که در مطالعه روزن[2] و همکاران بیان شده است، تغییر در pH معده می تواند در اثر آنزیم اوره آز یا تغییرات هیستولوژیکی بافت معده رخ دهد که منجر به کلونیزاسیون این بافت با گونه های باکتریایی از مخاط دهان، مجاری تنفسی فوقانی و روده ها خواهد شد. از آنجا که این باکتری ها در محیط طبیعی و سالم معده دوام نمی آوردند (۲۸, ۲۹)، تغییر pH توسط عوامل میزبانی، محیطی یا دارویی بعنوان یک فاکتور می تواند یافته های مطالعه حاضر را حمایت نماید. حضور باکتری های دارای اوره آز، شامل استافیلوکوکوس، میکروکوکوس، کلبسیلا، انتروباکتر و سیتروباکتر در هر دو گروه بیماران دارای گاستریت بویژه در گروه بیماران غیر مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری از یافته های جالب توجه در بیماران تحت بررسی می باشد. آنزیم اوره آز یک فاکتور بیماریزایی مهم هلیکوباکتر پیلوری است که با خنثی سازی اسیدکلریدریک امکان کلونیزاسیون باکتری در معده را فراهم می سازد. در مطالعات پیشین نیز با استفاده از روش های غیر مولکولی نشان داده شده است که حضور باکتری های دارای آنزیم اوره آز مانند برخی از گونه های پروتئوس، میکروکوکوس، کلبسیلا، استافیلوکوکوس، اشرشیا، سیتروباکتر، سودوموناس، نایسریا و انتروباکتردر میکروبیوتای بافت معده می تواند منجر به نتایج مثبت کاذب در تست های اوره آز هلیکوباکتر پیلوری گردد و بر تشخیص هلیکوباکتر پیلوری اثر گذارد (۳۰, ۳۱) البته نقش پاتوژن یا فلور نرمال بودن آن ها در معده و بویژه در گاستریت نیاز به بررسی و مطالعات بیشتر دارد.

با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه می توان گفت، گاستریت نیز شبیه بیماری هایی مانند پنومونی و مننژیت می تواند بوسیله انواعی از باکتری ها القا شود و علاوه بر هلیکوباکتر پیلوری، استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس می توانند در پاتوژنز این بیماری و حتی پیشبرد آن به سمت سرطانی شدن نقش داشته باشند. همچنین دیده شد که تأثیر عفونت هلیکوباکتر پیلوری بر روی ترکیب و تنوع میکروبیوتای معده خیلی کم است. همسو با این مطالعه، در مطالعه ای، مالدونادو[3] و همکاران نیز بیان داشتند که وضعیت عفونت هلیکوباکتر پیلوری تنها بخشی از کل تغییرات در میکروبیوتای معده را تشکیل می دهد (۲۲). در کل تغییراتی که در محیط معده در طی بیماری گاستریت اتفاق می افتد بسیار پیچیده است و فاکتورهای متعددی در آن تأثیرگذارند و عفونت با هلیکوباکتر پیلوری تنها یکی از این عوامل می باشد. بعلاوه در مراحل مختلف تغییرات هیستولوژیکی بافت معده ممکن است گونه هایی وجود داشته باشند که به تدریج در طول سرطانی شدن بافت معده حذف شوند و این مسئله در رابطه با هلیکوباکتر پیلوری نیز صدق می کند. پس از یک دوره طولانی مدت عفونت هلیکوباکتر پیلوری و عفونت همزمان آن با سایر باکتری ها و وجود ریسک فاکتورهای تعیین کننده در از دست رفتن سلول های پری تال دیس بیوتیک معده، افزایش

۱ Jinzhe Liu

۲ Rosen

۳ Maldonado

در pH، پاسخ های ایمنی ذاتی و اینتراکشن های میکروبیوتای معده، باعث پیشرفت و توسعه لزیون های قبل نئوپلاستی می شوند و در مراحل بعدی سرطانزایی از متاپلازی روده ای گرفته تا آدنوکارسینومای معده، کاهش و کم کم ناپدید شدن هلیکوباکتر پیلوری با توجه به ایجاد شرایط بافتی نامناسب جهت رشد آن در مخاط معده دیده شده است (۳۲, ۳۳). از طرفی تغییر در میکروبیوتای معده ممکن است بعلت عوامل دیگری مانند تغییر اسیدیتی معده، ترشح سایتوکین ها و بروز رخدادهای پاتولوژیک باشد و وابسته به عفونت هلیکوباکتر پیلوری نباشد و در غیاب هلیکوباکتر پیلوری، احتمال می رود که میکروبیوتای معده فرایندهای التهابی را در بافت معده القا کرده (۱۴) و این می تواند توضیحی برای این امر باشد که چرا بیمارانی که همزمان منفی از نظر عفونت هلیکوباکتر پیلوری اما مبتلا به گاستریت هستند به سمت سرطانی شدن بافت معده پیشرفت می کنند. این یافته ها حاکی از دخالت بالقوه میکروب هایی غیر از هلیکوباکتر پیلوری در بیماری های معده می باشند. از محدودیت های مطالعه حاضر می توان به محدود نمودن آزمایش ها به تشخیص باکتری های قابل کشت و هوازی اشاره نمود، که بدلیل میسر نبودن استفاده از روش های کشت جهت تشخیص باکتری های پرنیاز، مخمرها، قارچ ها، ویروس ها و عدم امکان دسترسی به ترکیبات تخصصی و شرایط بررسی مولکولی جمعیت های پیچیده میکروبی بود.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق حضور عوامل باکتریایی غیر هلیکوباکتر، همچون استرپتوکوکوس و استافیلوکوکوس، را در بافت معده بیماران مبتلا به گاستریت مورد تایید قرار داد. شاخه های پروتئوباکتریا و فرمی کوتس غالب ترین و شاخه اکتینوباکتریا کمترین شاخه باکتریایی شناسایی شده در این بیماران بودند. این یافته ها تاکید می نماید که در مواردی که بیمار ناراحتی های گوارشی دارد ولی از نظر عفونت هلیکوباکتر پیلوری منفی می باشد و یا در مواردی که درمان هلیکوباکتر پیلوری به سختی انجام گیرد یا درمان با شکست مواجه شود، لازم است وجود باکتری های غیر هلیکوباکتر پیلوری و یا وجود عفونت توامان هلیکوباکتر پیلوری با باکتری های غیر هلیکوباکتر پیلوری را مدنظر قرار داد. این امر می تواند در تشخیص علل بیماری، انتخاب صحیح رژیم های آنتی بیوتیکی، و پیشگیری از توسعه بیماری مفید باشد.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارضی در میان نویسندگان وجود ندارد.

سپاسگزاری

این مقاله از پایاننامه دوره دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی مصوب با شماره طرح ۹۸-۳-۹۹-۴۶۱۶۰ در دانشگاه علوم پزشکی تهران استخراج شده است. نویسندگان بر خود لازم میدانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از کارکنان مرکز تحقیقات عفونی اطفال، پژوهشکده سلامت کودکان بیمارستان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و بخش گوارش و کبد بیمارستان فیروزگر، دانشگاه علوم پزشکی ایران که ما را در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش یاری دادند، اعلام کنند.

REFERENCES

1. Rivas-Ortiz CI, Lopez-Vidal Y, Arredondo-Hernandez LJR, Castillo-Rojas GJFim. Genetic alterations in gastric cancer associated with Helicobacter pylori infection. Front Med. 2017;4:47.
2. Varbanova M, Frauenschläger K, Malfertheiner PJBP, Gastroenterology RC. Chronic gastritis–An update. Best Pract Res Clin Gastroenterol 2014;28(6):1031-42.
3. Qadri Q, Rasool R, Gulzar G, Naqash S, Shah ZAJJogc. H. pylori infection, inflammation and gastric cancer. J Gastrointest Cancer. 2014;45(2):126-32.
4. Carrasco G, Corvalan AHJGr, practice. Helicobacter pylori-induced chronic gastritis and assessing risks for gastric cancer. Gastroenterol Res Pract 2013;2013:393015.
5. Ricci V, Romano M, Boquet PJWjogW. Molecular cross-talk between Helicobacter pylori and human gastric mucosa. World J Gastroenterol. 2011;17(11):1383-99.
6. Riggio MP, Lennon A, Wray DJJoop, medicine. Detection of Helicobacter pylori DNA in recurrent aphthous stomatitis tissue by PCR. J Oral Pathol Med 2000;29(10):507-13.
7. Jia E-Z, Zhao FJ, Hao B, Zhu TB, Wang LS, Chen B, et al. Helicobacter pylori infection is associated with decreased serum levels of high density lipoprotein, but not with the severity of coronary atherosclerosis. Lipids Health Dis. 2009;8:59.
8. Kaplan M, Yavuz SS, Cinar B, Koksal V, Kut MS, Yapici F, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques of carotid artery by polymerase chain reaction. Int J Infect Dis 2006;10(2):116-23.
9. Espinoza JL, Matsumoto A, Tanaka H, Matsumura IJCl. Gastric microbiota: An emerging player in Helicobacter pylori-induced gastric malignancies. Cancer Lett. 2018;414:147-52.
10. Hunt RH, Yaghoobi MJGC. The esophageal and gastric microbiome in health and disease. Gastroenterol Clin. 2017;46(1):121-41.
11. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Jan 17;103(3):732-7.
12. Delgado S, Cabrera-Rubio R, Mira A, Suárez A, Mayo BJMe. Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. Microb Ecol 2013;65(3):763-72.
13. Jones TA, Hernandez DZ, Wong ZC, Wandler AM, Guillemin KJPp. The bacterial virulence factor CagA induces microbial dysbiosis that contributes to excessive epithelial cell proliferation in the Drosophila gut. PLoS

Pathog. 2017;13(10):e1006631.
14. Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, Costa JL, Carneiro F, Machado JC, et al. Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. Gut. 2018;67(2):226-36.
15. Fox JG, Wang TCJTJoci. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. J Clin Invest 2007;117(1):60-9.
16. Saberi S, Douraghi M, Azadmanesh K, Shokrgozar MA, Zeraati H, Hosseini ME, et al. A potential association between Helicobacter pylori CagA EPIYA and multimerization motifs with cytokeratin 18 cleavage rate during early apoptosis. Helicobacter. 2012;17(5):350-7.
17. Yadegar A, Mobarez AM, Alebouyeh M, Mirzaei T, Kwok T, Zali MRJWJoM, et al. Clinical relevance of cagL gene and virulence genotypes with disease outcomes in a Helicobacter pylori infected population from Iran. World J Microbiol Biotechnol. 2014;30(9):2481-90.
18. Salih BA. Helicobacter pylori infection in developing countries: the burden for how long?. Saudi J Gastroenterol. 2009;15(3):201-7.
19. Vaziri F, Peerayeh SN, Alebouyeh M, Mirzaei T, Yamaoka Y, Molaei M, et al. Diversity of Helicobacter pylori genotypes in Iranian patients with different gastroduodenal disorders. World J Gastroenterol. 2013;19(34):5685.
20. Niknam R, Fattahi MR, Sepehrimanesh M, Safarpour AJJJoM. Prevalence of Helicobacter pylori in southern part of Iran. Jundishapur J Microbiol 2018;11(6).
21. Shaghaei Tilki SH, Kaboosi H, Piravi Qadiklaei F. Prevalence of co-infection with Helicobacter pylori and non-pyloric Helicobacter pylori in patients with gastrointestinal disorders in Iran. Sci Res J Ilam Univ Med Sci. 2019; 27 (3): 101-11
22. Maldonado-Contreras A, Goldfarb KC, Godoy-Vitorino F, Karaoz U, Contreras M, Blaser MJ, et al. Structure of the human gastric bacterial community in relation to Helicobacter pylori status. ISME J 2011;5(4):574-9.
23. Hu Y, He L-H, Di Xiao G-DL, Gu Y-X, Tao X-X, Zhang J-ZJWjogW. Bacterial flora concurrent with Helicobacter pylori in the stomach of patients with upper gastrointestinal diseases. World J Gastroenterol. 2012;18(11):1257.
24. Khosravi Y, Dieye Y, Poh BH, Ng CG, Loke MF, Goh KL, et al. Culturable bacterial microbiota of the stomach of Helicobacter pylori positive and negative gastric disease patients. Sci World J 2014;2014.
25. Liu J, Xue Y, Zhou LJIjoc, pathology e. Detection of gastritis-associated pathogens by culturing of gastric juice and mucosa. Int J Clin Exp Pathol 2018;11(4):2214.
26. Morimoto M, Tamura S, Hayakawa T, Yamanishi H, Nakamoto C, Nakamoto H, et al. Phlegmonous gastritis associated with group A streptococcal toxic shock syndrome. Int Med 2014;53(22):2639-42.
27. Odai T, Hibino TJKzTJotJAflD. The abdominal ultrasonographic appearance of acute phlegmonous gastritis. J Japan Assoc Infect Dis. 2016;90(2):113-9.
28. Rosen R, Amirault J, Liu H, Mitchell P, Hu L, Khatwa U, et al. Changes in gastric and lung microflora with acid suppression: acid suppression and bacterial growth. JAMA Pediatr.2014;168(10):932-7.
29. Troncoso C, Pavez M, Cerda A, Oporto M, Villarroel D, Hofmann E, et al. Maldi-tof ms and 16s rna identification of culturable gastric microbiota: Variability associated with the presence of Helicobacter pylori. Microorganisms. 2020;8(11):1763.
30. Guo C, Liu F, Zhu L, Wu F, Cui G, Xiong Y, et al. Analysis of culturable microbiota present in the stomach of children with gastric symptoms. Braz J Microbiol. 2019;50(1):107-15.
31. Osaki T, Mabe K, Hanawa T, Kamiya SJJomm. Urease-positive bacteria in the stomach induce a false-positive reaction in a urea breath test for diagnosis of Helicobacter pylori infection. J Med Microbiol 2008;57(7):814-9.
32. Blaser MJ, Atherton JCJTJoci. Helicobacter pylori persistence: biology and disease. J Clin Invest. 2004;113(3):321-33.
33. Chen CC, Liou JM, Lee YC, Hong TC, El-Omar EM, Wu MS. The interplay between Helicobacter pylori and gastrointestinal microbiota. Gut Microbes. 2021;13(1):1-22.