



## اثر ضد میکروبی نانوذرات بر باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به زخم معده

دکتر جمیله نوروزی<sup>۱</sup>، مهتاب گل محمدی قادیکلایی<sup>۲\*</sup>، دکتر فرزانه حسینی<sup>۳</sup>، دکتر شهرام آگاه<sup>۴</sup>، دکتر سیامک خالقی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup>استاد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی، کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی  
<sup>۲</sup>استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، گروه میکروبیولوژی، دانشیار، دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد  
<sup>۳</sup>استادیار، دانشگاه علوم پزشکی تهران، مرکز تحقیقات بیماریهای گوارش و کبد

### چکیده

سابقه و هدف: اخیراً گزارش هایی مبنی بر وجود باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری در معده بیماران مبتلا به زخم معده یافته شده است. هدف از این پژوهش، جداسازی و شناسایی باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به زخم معده و بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره بر روی آن ها بود.

مواد و روش ها: ۵۰ نمونه از بیوپسی آنتروم معده بیماران مبتلا به زخم معده مراجعه کننده به بیمارستان مجتمع رسول اکرم (ص) تهران توسط پزشکان متخصص گوارش جمع آوری شد. نمونه ها در محیط کشت مایع انتقالی به آزمایشگاه میکروپ شناسی منتقل شدند. باکتری های اوره آز مثبت موجود در معده با روش های استاندارد باکتریولوژی مانند کشت در محیط های اختصاصی و انجام تست های بیوشیمیایی شناسایی گردیدند. سپس اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره بر روی باکتری های اوره آز مثبت، با تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) مشخص گردید.

یافته ها: نتایج نشان داد که در ۴۲٪ از نمونه های جمع آوری شده باکتری های اوره آز مثبت (۱۰٪ کلبسیلا نمونیه، ۱۰٪ استافیلوکوکوس اورئوس، ۸٪ انتروباکتر کلوآکه، ۶٪ انتروباکتر آگلومرانس، ۴٪ کلبسیلا اوزنه و ۴٪ سینتروباکتر دایورسوس) وجود داشتند. همچنین MIC ضد میکروبی نانوذرات نقره بر روی جدایه های باکتریایی بین ۱/۵۶ تا ۱۲/۵ و MBC آن ها بین ۳/۱۲۵ تا ۲۵ تعیین گردید.

نتیجه گیری: رشد برخی از باکتری های اوره آز مثبت می تواند منجر به مشاهده مثبت کاذب در تست های تنفسی اوره و اوره آز سریع گردد. بنابراین توصیه می شود که برای تشخیص عامل زخم معده، تمام باکتری های اوره آز مثبت موجود در معده مورد شناسایی قرار گرفته و درمان بر اساس آن ها صورت گیرد. از طرفی به دلیل بروز مقاومت باکتری ها نسبت به اکثر داروهای رایج، امکان استفاده از اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره بر علیه باکتری های مورد پژوهش وجود دارد.

واژگان کلیدی: زخم معده، باکتری های اوره آز مثبت، نانوذرات نقره.

دریافت مقاله: بهمن ۸۸ پذیرش برای چاپ: اردیبهشت ۸۹

\*درس برای مکاتبه: تهران، خیابان شریعی، کوچه میناق سوم (روشن)، پلاک ۴۸، واحد ۴.

تلفن: ۰۹۱۲۲۸۹۶۳۳۹

پست الکترونیکی: mahtabgolmohammadi@yahoo.com

## مقدمه

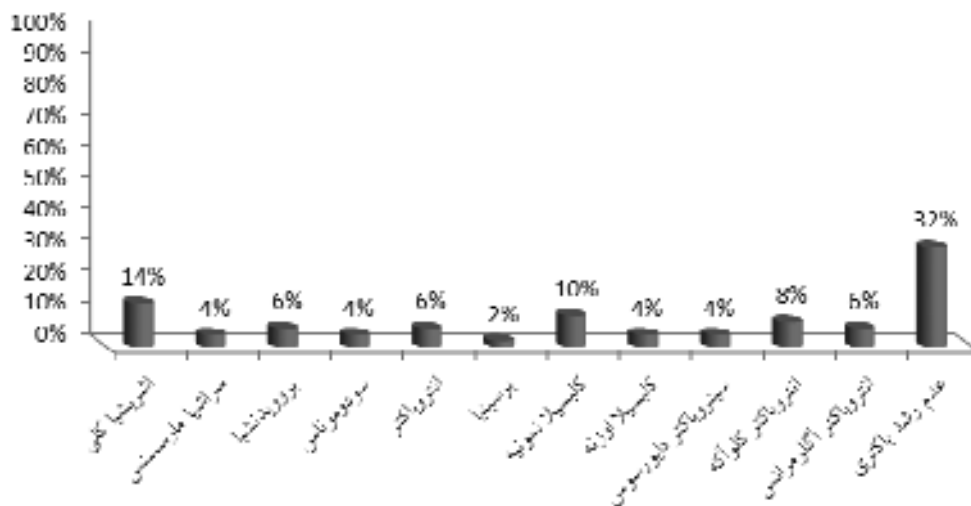
هلیکوباکتر پیلوری، باکتری مارپیچی شکل گرم منفی می باشد که ۸۰٪ زخم معده ها را به آن نسبت می دهند (۱). این باکتری توانایی مقاومت در محیط اسیدی معده را دارد. اوره آز، آنزیمی موجود در برخی گیاهان، قارچ ها و باکتری ها می باشد که هیدرولیز اوره به آمونیاک و دی اکسید کربن را تسهیل می کند (۲). روش های تشخیصی مهاجم و غیر مهاجم برای تعیین عفونت هلیکوباکتر پیلوری مورد استفاده قرار می گیرد (۳). از روش های تهاجمی می توان به استفاده از اندوسکوپی، بیوپسی معده، آزمایشات بافت شناسی، تست اوره آز سریع (RUT) و جداسازی هلیکوباکتر پیلوری با روش کشت اشاره نمود (۴). روش های غیر تهاجمی شامل تست آنتی بادی ضد هلیکوباکتر پیلوری و تست تنفسی اوره (UBT) می باشد. تست تنفسی اوره (UBT)، روشی مفید برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری می باشد (۵). امروزه از تست اوره آز به دلیل نتایج سریع، ساده و ارزان بودن به عنوان روشی استاندارد جهت تعیین حضور هلیکوباکتر پیلوری استفاده می گردد (۶). محققان سال ها بر این باور بوده اند که هلیکوباکتر پیلوری تنها باکتری اوره آز مثبت ایجاد کننده زخم و التهاب معده می باشد. در حالی که امروزه مشخص شده است علاوه بر هلیکوباکتر پیلوری باکتری های اوره آز مثبت دیگری نیز در معده وجود دارند که می توانند نتیجه برخی از آزمایش های تشخیصی هلیکوباکتر پیلوری را به طور کاذب، مثبت گزارش کنند. برخی از این گونه های میکروبی شامل کلاستریدیوم ها، کورینه باکتریوم ها، اعضای خانواده انتروباکتریاسه (سیتروباکتر، انتروباکتر، کلبسیلا، مورگانلا، پروتئوس و پروویدنسیا)، استافیلوکوکوس، اوره آپلازما و یرسینیا می باشند (۷). از اکی (Osaki) و همکاران در سال ۲۰۰۸ اثبات کردند که باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از معده و حفره دهان در بیماران مبتلا به زخم معده، تست تنفسی اوره را به صورت کاذب مثبت می کنند (۳). همچنین براندی (Brandi) و همکارانش در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری، تست های تشخیصی هلیکوباکتر پیلوری را در افراد هیپوکلریدریک (بیمار با کاهش اسید معده) به

طور کاذب مثبت می کنند (۸).

استفاده از نقره و دیگر یون های فلزی به مدت طولانی مورد بررسی بوده اند (۹). امروزه، ترکیبات مختلفی از نقره مانند سولفادiazین، کلرگزیدین نقره و نیترات نقره به عنوان داروی ضد میکروبی در درمان عفونت های ناشی از سوختگی زخم های باز و زخم های مزمن به کار می روند (۱۰). ترکیبات نانوذرات نقره به عنوان عامل ضد میکروبی و ضد قارچی در قالب شکل های مختلفی مانند اسپری های تهویه کننده هوا، قرص ها، صابون ها، شامپوها، خمیر دندان ها و ظروف ذخیره غذا و غیره ارائه شده اند (۱۱). همچنین گزارش های زیادی در مورد استفاده از ذرات نانو در پیشگیری از پاتوژن های غذایی منتشر شده است (۱۲ و ۱۳). این مطالعه با هدف جداسازی و شناسایی باکتری های اوره آز مثبت به غیر از هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به زخم معده و نیز بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره نیز بر روی باکتری های جدا شده انجام شد.

## مواد و روش ها

۵۰ نمونه بیوپسی از قسمت آنتروم معده بیماران مبتلا به زخم معده از بیمارستان مجتمع رسول اکرم (ص) به صورت تصادفی در مدت شش ماه توسط پزشکان متخصص گوارش جمع آوری گردید. از ۵۰ بیمار مورد بررسی ۲۱ نفر مذکر و ۲۹ نفر مؤنث بودند و در رده سنی ۱۷ تا ۸۱ سال قرار داشتند. نمونه ها در محیط کشت انتقالی به آزمایشگاه میکروب شناسی منتقل شد. باکتری های موجود در معده با روش های استاندارد باکتری شناسی مانند کشت در محیط های اختصاصی، رنگ آمیزی گرم و انجام تست های بیوشیمیایی شناسایی گردیدند. تمامی نمونه ها بر روی محیط های BHI آگار، بلاد آگار، مک کانکی آگار و ائوزین متیلن بلو (EMB) کشت داده شدند. پس از خالص سازی، رنگ آمیزی گرم انجام شد و باکتری های گرم مثبت روی محیط مانیتول سالت آگار (MSA) برده شدند. در صورت مشاهده کلنی های زرد رنگ، برای تشخیص نهایی استافیلوکوکوس اورئوس از تست های کاتالاز و کوآگولاز استفاده گردید. بر روی باکتری های گرم منفی تست های اکسیداز، اندول، متیل رد، VP، سترات و دکربوکسیلاسیون اورنیتین و غیره انجام گرفت. همه محیط کشت های مورد استفاده



شکل ۱: درصد باکتری های جدا شده از معده بیماران.

ساخت شرکت مرک آلمان بودند. همچنین سویه های جدا شده از نظر فعالیت اوره آزی مورد بررسی قرار گرفتند. باکتری های جدا شده از معده، پس از خالص سازی، بر روی محیط کشت اوره برده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در صورت تغییر رنگ کلنی ها به ارغوانی، باکتری اوره آز مثبت و در صورت عدم تغییر رنگ، باکتری اوره آز منفی گزارش گردید. همچنین از محیط کشت اوره مایع نیز استفاده گردید. باکتری های کشت داده شده در این محیط پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بررسی شدند و نتیجه به صورت تغییر رنگ گزارش گردید.

ساخت شرکت مرک آلمان بودند.

همچنین سویه های جدا شده از نظر فعالیت اوره آزی مورد بررسی قرار گرفتند. باکتری های جدا شده از معده، پس از خالص سازی، بر روی محیط کشت اوره برده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در صورت تغییر رنگ کلنی ها به ارغوانی، باکتری اوره آز مثبت و در صورت عدم تغییر رنگ، باکتری اوره آز منفی گزارش گردید. همچنین از محیط کشت اوره مایع نیز استفاده گردید. باکتری های کشت داده شده در این محیط پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد بررسی شدند و نتیجه به صورت تغییر رنگ گزارش گردید.

نانو ذرات نقره به صورت محلول در غلظت ۴۰۰۰ ppm از شرکت نانو نصب پارس خریداری شد. محلول ذخیره در ۱۰ غلظت مختلف رقیق گردید. در این پژوهش از کشت تازه (۱۸-۲۴ ساعته) باکتری استفاده شد. مقداری از کلنی باکتری در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل گردید تا از لحاظ کدورت مساوی با ۰/۵ مک فارلند گردد. محلول به دست آمده از هر باکتری دارای غلظتی معادل  $10^8 \times 1/5$  CFU/ml بود. برای به دست آوردن حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) از روش رقیق سازی استفاده شد. پس از تعیین MIC، محتویات چندین لوله پایین تر و بالاتر از غلظت MIC در محیط، کشت داده شد تا حداقل غلظت کشندگی (MBC) بر روی باکتری های ایزوله شده به دست آید. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نسخه ۶/۵ نرم افزار

SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون آماری مربع کای انجام گرفت. مرز معنی داری روی  $p < 0/05$  قرار داده شد.

**یافته ها**

در این مطالعه از ۵۰ نمونه مورد بررسی، ۳۹ باکتری مختلف جداسازی گردید. به طوری که از ۲۹ بیمار، ۳۹ باکتری جدا شد (در برخی موارد ۲ یا ۳ باکتری از یک بیمار جداسازی شد) و بقیه نمونه ها به دلیل عدم رشد باکتری و یا تنها رشد مخمر از رده خارج شدند. در ۴۲٪ از نمونه ها باکتری های کلبسیلا نمونیه (۱۰٪)، کلبسیلا اوزنه (۴٪)، سیتروباکتر دیورسوس (۴٪)، انتروباکتر کلوآکه (۸٪) و استافیلوکوکوس اورئوس (۱۰٪) با فعالیت اوره آزی شدید شناسایی شدند. همچنین انتروباکتر آگلومرانس در ۶٪ از موارد با فعالیت اوره آزی ضعیف مشخص گردید. در ۳۶ درصد از نمونه ها باکتری های اوره آز منفی مانند اشیشیا کلی، سراسیا مارسنس، پروویدنسیا، سودوموناس، انتروباکتر و یرسینیا فردریکسنی یافت شدند. همان گونه که در شکل ۱ ملاحظه می شود بیشترین فراوانی جدایه های باکتریایی مربوط به اشیشیا کلی و کمترین آن ها مربوط به یرسینیا بود.

آنالیز آماری نشان داد که بین جنسیت و وجود باکتری های اوره آز مثبت ارتباط معنی داری وجود ندارد. اکثر افرادی که در این بررسی دارای باکتری های اوره آز مثبت بودند در گروه سنی بین ۴۰ تا ۶۰ و

جدول ۱: اطلاعات مربوط به بیمارانی که از آن ها نمونه گیری بیوپسی معده به عمل آمده است.

| نوع باکترها             | چسبیت |    | سابقه ارثی       |                 | سابقه غذایی   |                  |
|-------------------------|-------|----|------------------|-----------------|---------------|------------------|
|                         | مرد   | زن | دارای سابقه ارثی | فاقد سابقه ارثی | بستر گاو-خوار | بستر گوسفند-خوار |
| باکتری های اوره آز مثبت | ۷۴    | ۷۶ | ۷۰               | ۷۰              | ۷۶            | ۷۲               |
|                         | ۷۳    | ۷۴ | ۷۰               | ۷۴              | ۷۰            | ۷۴               |
|                         | ۷۲    | ۷۲ | ۷۰               | ۷۱              | ۷۴            | ۷۰               |
|                         | ۷۸    | ۷۵ | ۷۰               | ۷۴              | ۷۶            | ۷۲               |
|                         | ۷۲    | ۷۴ | ۷۰               | ۷۴              | ۷۶            | ۷۲               |
| باکتری های اوره آز منفی | ۷۶    | ۷۴ | ۷۰               | ۷۱              | ۷۲            | ۷۲               |
|                         | ۷۶    | ۷۴ | ۷۰               | ۷۸              | ۷۶            | ۷۲               |
|                         | ۷۶    | ۷۴ | ۷۰               | ۷۱              | ۷۲            | ۷۲               |
|                         | ۷۶    | ۷۴ | ۷۰               | ۷۴              | ۷۲            | ۷۲               |
|                         | ۷۶    | ۷۴ | ۷۰               | ۷۱              | ۷۲            | ۷۲               |

ضدمیکروبی غلظت های مختلف نانوذرات نقره در باکتری های مانند استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا نمونیه، کلبسیلا اوزنه، سیتروباکتر دایورسوس، انتروباکتر کلواکه و انتروباکتر آگلومرانس به صورت حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) تعیین شد (جدول ۲). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که میانگین میزان MIC بین ۱/۵۶ تا ۱۲/۵ و میانگین میزان MBC بین ۳/۱۲۵ تا ۲۵ می باشد.

### بحث

هلیکوباکتر پیلوری به عنوان عامل اصلی التهاب مزمن، زخم و سرطان معده شناخته شده است (۲). علاوه بر هلیکوباکتر پیلوری باکتری های اوره آز مثبت دیگری در معده وجود دارند که می توانند نتیجه برخی از آزمایش های تشخیصی هلیکوباکتر پیلوری را به طور کاذب، مثبت گزارش کنند. در این پژوهش ۵۰ نمونه بیوپسی از قسمت آنتروم معده بیماران مبتلا به زخم معده از بیمارستان مجتمع رسول اکرم (ص) به صورت تصادفی در مدت شش ماه جمع آوری گردید. نمونه ها برای شناسایی باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. در مطالعه حاضر ۵ نوع باکتری اوره آز مثبت (کلبسیلا نمونیه، کلبسیلا اوزنه، سیتروباکتر دایورسوس، انتروباکتر کلواکه و استافیلوکوکوس اورئوس) از معده بیماران مبتلا به زخم معده

نیز بالاتر از ۶۰ سال قرار داشتند به طوری که این ارتباط از نظر آماری معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). اکثر باکتری های اوره آز مثبت در معده افراد با سنین بالا جایگزین شده بود. از ۵۰ نمونه مورد بررسی، ۸ نفر دارای بیش از یک نوع باکتری در معده خود بودند و از این تعداد ۶ نفر سن بالاتر از ۵۰ سال داشتند. غذای اصلی ۵۸ درصد از بیماران دارای باکتری های اوره آز مثبت، گوشت قرمز بود. از ۱۹ بیمار دارای باکتری های اوره آز مثبت، تنها یک نفر از غذاهای غیرگوشتی استفاده می کرده است. این ارتباط از نظر آماری معنی دار بود. ۲۱ درصد از افراد دارای باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری در معده، دارای سابقه ارثی ابتلا به ناراحتی های معده بودند (جدول ۱).

خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره، با اندازه متوسط ۴/۵ تا ۱۰ نانومتر و غلظت ۲۰۰ ppm، بر روی باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت های جدول ۲: اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره روی باکتری های اوره آز مثبت جدا شده از معده.

| نام باکتری           | میانگین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) | میانگین حداقل غلظت کشندگی (MBC) |
|----------------------|--------------------------------------|---------------------------------|
| کلبسیلا نمونیه       | ۳/۴۴                                 | ۱۱/۸۶                           |
| انتروباکتر کلواکه    | ۲/۳۴                                 | ۷/۸۰                            |
| انتروباکتر آگلومرانس | ۱۲/۵                                 | ۲۵                              |
| کلبسیلا اوزنه        | ۹/۳۷                                 | ۹/۳۷                            |
| سیتروباکتر دایورسوس  | ۳/۹۰                                 | ۹/۳۷                            |
| استافیلوکوکوس اورئوس | ۷/۲۵                                 | ۲۵                              |

اجتماعی جامعه باشد. اکثر افرادی که در این بررسی دارای باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری در معده خود بودند، در سنین بالا قرار داشتند. بنابراین می توان گفت با گذشت زمان، باکتری های بیشتری در معده وارد شده و استقرار می یابند. در افراد دارای باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری که دارای سابقه ارثی ابتلا به ناراحتی های معده بودند، شاید بتوان دلیل جایگزینی باکتری ها را به غذای مصرفی مشترک در خانواده و آداب غذایی خاص نسبت داد. غذای اصلی اکثر افراد دارای باکتری های اوره آز مثبت در معده، گوشت قرمز بوده و علاقه غذایی گوشتی و عدم استفاده از سبزیجات به میزان کافی می تواند یکی از دلایل استقرار این باکتری ها در معده این افراد باشد. از آن جایی که افراد دارای باکتری های اوره آز مثبت، اغلب چند بار اندوسکوپی انجام داده بودند و پس از درمان بهبودی حاصل نشده بود، احتمالاً وجود این باکتری ها در معده باعث تشخیص نادرست بیماری شده بود.

در پژوهش حاضر، اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره بر روی باکتری های اوره آز مثبت جدا شده از بیوپسی معده بررسی شد. سوندی (Sondi) و سالوپک سوندی (Salopek-Sondi) در سال ۲۰۰۴ فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره را بر روی باکتری اشریشیاکلی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن ها نشان داد که این باکتری تحت تاثیر ذرات نقره قرار گرفته و آسیب دیده است (۱۶). اما به دلیل تفاوت باکتری های مورد بررسی در پژوهش اخیر با مطالعه ما، مقایسه آن ها امکان پذیر نمی باشد.

روپارلا (Ruparelia) و همکاران به بررسی اثرات ضد میکروبی نانوذرات نقره با اندازه ۴۰-۱۲ نانومتر پرداختند (۱۷). در بررسی آن ها حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) حدود ۱۰۰ ppm گزارش گردید که بیشتر از نتایج ما در این پژوهش (۱۲/۵-۱/۵۶ ppm) بود. بنابراین، به نظر می رسد که با کوچک تر شدن نانوذرات نقره خاصیت ضد میکروبی افزایش می یابد.

در سال ۲۰۱۱ پتروس (Petrus) و همکاران، اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره را بر روی باکتری های موجود در غذا مورد بررسی قرار دادند. آن ها حداقل غلظت مهارکنندگی ۲۵-۷ ppm و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) را بالای ۱۰۰ ppm گزارش کردند

جداسازی گردید. در سال ۲۰۰۲ مارچارت (Marchart) گزارش کرد که تعداد زیادی از انواع باکتری های مختلف غیر از هلیکوباکتر پیلوری می توانند التهاب و زخم معده ایجاد کنند که در نهایت منجر به سرطان معده می شود (۱۴). میچاد (Michaud) و همکاران در سال ۱۹۹۸ توانستند چندین باکتری اوره آز مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا نمونیه و اشریشیاکلی را از معده بیماران جداسازی کنند (۱۵). اشریشیاکلی یافت شده در مطالعه ذکر شده اوره آز مثبت گزارش گردید که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت داشت. شاید دلیل این اختلاف را بتوان چنین بیان کرد که برخی باکتری های اشریشیاکلی اوره آز مثبت ضعیف هستند و اغلب به صورت اوره آز منفی گزارش می شوند. در سال ۲۰۰۸، اوزاکی (Osaki) و همکاران با بررسی بیماران دارای زخم معده ناشی از هلیکوباکتر پیلوری نشان دادند که باکتری های اوره آز مثبت جدا شده از معده و حفره دهان این بیماران، تست تنفسی اوره را به طور کاذب، مثبت می نمایند. این باکتری ها شامل پروتئوس میرابیلیس، سیتروباکتر فروندی، کلبسیلا نمونیه و انتروباکتر کلوآکه و استافیلوکوکوس اورئوس بودند (۳). در سال ۲۰۰۶ برانندی (Brandi) و همکاران، مطالعه ای بر روی ۲۵ بیمار هیپوکلریدریک (بیمار با کاهش اسید معده) برای شناسایی باکتری های اوره آز مثبت غیر از هلیکوباکتر پیلوری انجام دادند. آن ها توانستند علاوه بر هلیکوباکتر پیلوری، ۱۰ گونه باکتری اوره آز مثبت دیگر از خانواده های استرپتوکوکوس، استافیلوکوکوس، گاردنلا و لاکتوکوکوس جداسازی کنند. از طرفی آن ها دریافتند که این باکتری ها توانسته اند تست های تشخیصی هلیکوباکتر پیلوری را به طور کاذب مثبت کنند (۸). بنابراین برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری، توجه به حضور سایر باکتری های اوره آز مثبت معده و تاثیر احتمالی آن ها در نتیجه آزمایش ضروری می باشد. از طرفی تجویز مهارکننده های اسیدی و آنتی بیوتیک ها، محیط معده را تغییر می دهند و تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران تحت درمان با این داروها نیاز به توجه دقیق دارد. تفاوت مشاهده شده در نوع باکتری های جداسازی شده در مطالعات یاد شده و پژوهش حاضر می تواند به دلیل تفاوت در نوع تغذیه، روش زندگی، رعایت بهداشت، شرایط اقتصادی و

ارزان تر و سریع تر کمک کرد. از آن جایی که علاوه بر هلیکوباکتر پیلوری باکتری های اوره آز مثبت دیگری نیز می توانند نتایج تست تنفسی اوره را به صورت کاذب مثبت گزارش کنند، لذا پیشنهاد می گردد به جای استفاده از آزمایش اوره آز سریع یا تست تنفسی اوره، از روش های مولکولی یا روش های بیوشیمی متداول برای تشخیص باکتری عامل زخم معده استفاده شود. همچنین به دلیل اثرات ضد میکروبی استفاده از نانوذرات نقره به عنوان جایگزین درمانی و یا همراه با آنتی بیوتیک ها به منظور درمان ناراحتی های مزمن معده پیشنهاد می گردد.

### تشکر و قدر دانی

نویسندگان این مقاله از حمایت های دلسوزانه پرسنل و مسئولین آزمایشگاه محمودیه تهران به دلیل همکاری صمیمانه در انجام این پژوهش کمال امتنان را دارند.

(۹). این یافته ها با نتایج به دست آمده در مطالعه جاری هم خوانی ندارد. این امر می تواند وابسته به شرایط استقرار باکتری ها باشد. به طوری که باکتری های موجود در غذا ممکن است مقاوم تر از باکتری های موجود در معده باشد.

### نتیجه گیری

در بررسی حاضر، باکتری های اوره آز مثبت دیگری غیر از هلیکوباکتر پیلوری در معده بیماران مشکوک به زخم معده یافت شدند. افزایش این باکتری ها در معده ممکن است در ناراحتی های معده نقش داشته باشند. گاهی با تشخیص نادرست هلیکوباکتر پیلوری، بیمار ناچار به مصرف چند نوع آنتی بیوتیک و دارو می باشد و در نهایت ممکن است موجب عود مجدد بیماری گردد. بنابراین اگر باکتری های دیگری که عامل زخم معده هستند شناسایی گردند به جای استفاده از آنتی بیوتیک های مختلف می توان با تجویز داروی مناسب، به درمان بهتر بیمار به گونه ای

### References

1. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *The Lancet*. 1984; 323(8390): 1311-1315.
2. Olivera Severo D, Wassermann GE, Carlini CR. Urease display biological effects independent of enzymatic activity. Is there a connection to diseases caused by urease-producing bacteria? *Braz J Med Biol Res*. 2006; 39(7): 851-861.
3. Osaki T, Mabe K, Hanawa T, Kamiya S. 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): 814-819.
4. Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(3): 449-490.
5. Wu IC, Wang SW, Yang YC, Yu FJ, Kuo CH, Chuang CH, Lee YC, Ke HL, Kuo FC, Chang LL, Wang WM, Jan CM, Wu DC. other authors, Comparison of a new office-based stool immunoassay and (13)C-UBT in the diagnosis of current *Helicobacter pylori* infection. *J Lab Clin Med*. 2006; 147(3): 145-149.
6. Suerbaum S, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. in: Lederberg J (ed). *Encyclopedia of microbiology*. 2. Auflage. Academic Press, San Diego. 2000; pp. 628-634.
7. Murray RP, Rosenthal K, Kobayashi SG, Pfaller M. *Medical Microbiology*. 4<sup>th</sup> ed. Mosby Inc, London. 2002; pp. 288-296.
8. Brandi G, Biavati B, Calabrese C, Granata M, Nannetti A, Mattarelli P, Di Febo G, Saccoccio G, Biasco G. Urease-positive bacteria other than *Helicobacter pylori* in human gastric juice and mucosa. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101(8): 1756-1761
9. Petrus EM, Tinakumari S, Chai LC, Ubong A, Tunung R, Elexson N, Chai LF, Son R. Study on the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of nano colloidal silver on food-borne pathogens. *Int Food Res J*. 2011; 18(1): 55-66.
10. Monaf WW, Freedman B. Topical therapy for burns. *Surg Clin North Am J*. 1987; 67(1): 133-145.

11. Buzea C, Pacheco II, Robbie K. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*. 2007; 2(4): 17- 71.
12. Suzita R, Abu Bakar F, Son R, Abdulmir AS. Detection of *Vibrio cholerae* in raw cockles (*Anadara granosa*) by polymerase chain reaction. *Int Food Res J*. 2010; 17: 675- 680.
13. Tang JYH, Mohamad Ghazali F, Saleha AA, Nishibuchi M, Son R. Comparison of thermophilic *Campylobacter spp.* occurrence in two types of retail chicken samples. *Int Food Res J*. 2009; 16: 277-288.
14. Marchant L. Bacteria other than *Helicobacter* can lead to ulcers. *Unisci magazine*. 2002; 35(3): 4-11.
15. Michaud L, Gottrand F, Ganga-Zandzou PS, Wizla-Derambure N, Turck D, Vincent P. Gastric bacterial overgrowth is a cause of false positive diagnosis of *Helicobacter pylori* infection using 13C urea breath test. *Gut*. 1998; 42(4): 594-595.
16. Sondi I, Salopek-Sondi B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for gram-negative bacteria. *J Colloid Interface Sci*. 2004; 275(1): 177-182.
17. Ruparelia JP, Chatterjee AK, Dutttagupta SP, Mukherji S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticle. *Acta Biomater*. 2008; 4(3): 707-716.



## Anti microbial Effect of Nanoparticles on Non-*Helicobacter pylori* Urease Positive Bacteria Isolated from Peptic Ulcer Patients

Jamile Nowrozi<sup>1</sup>, Mahtab Golmohamadi Ghadikolai<sup>2</sup>, Farzane Hosaini<sup>3</sup>,  
Shahram Agah<sup>4</sup>, Siamak Khaleghi<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Professor, Department of Microbiology, North of Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>M.Sc., Department of Microbiology, North of Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>3</sup>Associate Professor, Department of Microbiology, North of Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>4</sup>Associate Professor, Tehran University of Medical Sciences, Gastro Intestinal and Liver disease research center, Tehran, Iran

<sup>5</sup>Assistant Professor, Tehran University of Medical Sciences, Gastro Intestinal and Liver disease research center, Tehran, Iran

---

### Abstract

**Background and Objective:** Recently the presence of several urease-positive bacteria other than *Helicobacter pylori* has been reported in gastric ulcer patients. The purpose of this study was the isolation and identification of urease-positive bacteria other than *Helicobacter pylori* in patients with gastric ulcer and at the same time, determining the anti-microbial effects of silver nanoparticles on the isolated bacteria.

**Materials and Methods:** 50 gastric antrum biopsies were collected from patients with gastric ulcer who were admitted to the Rasoul Akram hospital (Tehran) by gastrointestinal specialists. The samples were transferred to the microbiology laboratory by transitive liquid medium. Urease-positive bacteria in the stomach were identified by standard bacteriological methods, including culture-specific and biochemical tests. The antimicrobial effects of the silver nanoparticles on urease-positive bacteria were determined according to minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) techniques.

**Results:** The results showed that 42% of collected samples was urease-positive (10% *Klebsiella pneumoniae*, 10% *Staphylococcus aureus*, 8% *Enterobacter cloace*, 6% *Enterobacter agglomerans*, 4% *Klebsiella azaene* and 4% *Citrobacter freundii*). The antimicrobial effects of silver nanoparticles on the isolated bacteria showed 1.56-12.5 MIC and 3.125-25 MBC.

**Conclusion:** Growth of urease-positive bacteria may lead to false positive observation on UBT and rapid urease tests. Therefore, it is better all urease-positive bacteria isolated from stomach to be sent for accurate diagnosis in order to improve the impacts of treatment. Also, in order to avoiding of bacterial resistance to antibiotics, silver nanoparticles are appropriate alternatives.

**Keyword:** Peptic Ulcer, Urease-positive bacteria, Silver nanoparticle

---

**Correspondence to:** Mahtab Golmohamadi Ghadikolai

Tel: +989122896339

E-mail: mahtabgolmohammadi@yahoo.com

Journal of Microbial World 2010 3(2): 101-108