مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هفدهم، شماره ۵، اردیبهشت ۱۳۹۴، صفحه ۴۳-۳۷

مقاومت به آنتی بیوتیک در هلیکوباکتر پیلوری جدا سازی شده از بیوپسی معده به روش PCR

علی قربانی رنجبری (DVM)[1*]، شیدا اسماریان (PhD)[2]، محمد حسین مرحمتی زاده (PhD)[3]

۱-باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدکازرون
۲-گروه فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون
۳-گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی کازرون

دریافت: ۹۳/۴/۳۰، اصلاح:۹۳/۷/۲، پذیرش:۹۳/۱۱/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: عفونت هلیکو باکتر پیلوری شایع ترین عفونت در جهان شناخته شده و به طور تقریبی نصف جهان به آن دچار می شوند. یکی از مهمترین دلایل شکست درمان هلیکو باکتر پیلوری مقاومت آن به آنتی بیوتیک ها است. هدف از این مطالعه بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی هلیکو باکتر پیلوری جدا سازی شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی شیراز می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه مقطعی از ۸۰ بیمار مراجعه کننده به بخش آندسکوپی بیمارستان شهید بهشتی شیراز نمونه بیوپسی اخذ گردید. بیوپسی در محیط ترانسپورت تیوگلیکولات براث به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ابتدا در محیط کلمبیا آگار غنی شده کشت داده شد. پس از انجام تست های بیوشیمیایی جهت تائید نهایی مورد آزمایش PCR قرار گرفت و در ادامه جهت انجام تست مقاومت آنتی بیوتیکی از روش استاندارد CLSI استفاده شد.

یافته‌ها: از میان ۸۰ نمونه مورد بررسی ۵۹ مورد (۷۳/۷۵ درصد) آلوده به هلیکوباکترپیلوری بودند. از این میان ۳۶ مورد (۶۱ درصد) مقاوم به به مترونیدازول، ۱۹مورد (۳۲/۲ درصد) مقاوم به آموکسی سیلین، ۱۴ مورد (۲۳/۷۲ درصد) مقاوم به تتراسایکلین و کمترین مقاومت به کلاریترومایسین به میزان ۲ مورد (۳/۳۵ درصد) بود.

نتیجه گیری: به دلیل مقاومت بالا به مترونیدازول، ضرورت جایگزینی آن با کلاریترومایسین و یا سایر آنتی بیوتیک ها در رژیم درمانی وجود دارد.

واژه های کلیدی: هلیکو باکتر پیلوری، مقاومت، آنتی بیوتیک.

مقدمه

عفونت هلیکوباکترپیلوری شیوع جهانی دارد و در تمام گروه های سنی ایجاد می شود. شیوع هلیکوباکترپیلوری در مناطق مختلف جهان متفاوت است و تا حد زیادی به استانداردهای کلی زندگی در هر منطقه بستگی دارد (۲و۱). هلیکوباکترپیلوری دارای حرکت چرخشی و خزشی است و در محیط های ویسکوز، مانند مخاط معده حرکت آن بهتر و سریع صورت می گیرد (۳و۱). این باکتری به تعداد زیاد عمدتاً در سطح موکوزال معده حاملین یافت می شود و میتواند با نفوذ به زیر لایه موسینی به رشد خود ادامه دهد. این باکتری قادر است به طرز جالبی موکوس معده را برای دهها سال، علیرغم پاسخ های ایمنی اکتسابی و التهابی و نیز جایگزینی پیوسته اپیتلیال معده آلوده نماید (۴). هلیکوباکتر پیلوری عامل بیماری های گاستریت و زخم پپتیک است و فاکتور خطری برای سرطان معده و لنفومای سلول های نوع B لنفوئیدی غشاء مخاطی معده (MALT Lymphoma) به حساب می آید. بعد از جداسازی و کشت هلیکوباکتر پیلوری از نمونه های بیوپسی معده بیماران مبتلاء به گاستریت در سال ۱۹۸۳ و معرفی این باکتری بعنوان عامل اصلی گاستریت فعال مزمن، توجه بسیاری از محققین به این باکتری جلب شد و سالانه تحقیقات بسیار زیادی در این زمینه انجام می گیرد و هم اکنون ارتباط وجود این باکتری با وجود بیماریهای مختلف دستگاه گوارش مانند سوء هاضمه بدون نشانه (Non-Ulcer Dyspepsia=NUD)، زخم معده، زخم دوازدهه، سرطان معده و لنفومای معده به اثبات رسیده است (۶و۵و۱) عفونت با این باکتری شیوع بسیار بالایی دارد به گونه ای که در برخی جوامع در سنین بین ۱۶ تا ۶۹ سال تا ۶۹٪ و یا در سنین بین ۴۶ تا ۵۵ سال ۷۹/۲ افراد به باکتری آلوده اند. اگرچه راه انتقال آن دقیق شناخته نشده ولی به دلیل اینکه باکتری از طریق خوردن سبزیجات نشسته یا پخته نشده ای که خاک آنها با مدفوع انسانی تقویت شده (در کشورهای در حال توسعه) و یا از راه آب آلوده و حتی پلاک دندان و دهان کسب می شود (۸و۷). درمان آن بیشتر به صورت درمان ترکیبی سه یا چهار دارویی متشکل از آموکسی سیلین، کلاریترومایسین، تتراسایکلین، مترونیدازول، ترکیبات بیسموت و یک مهار کننده پمپ پروتون است. استفاده از چند آنتی بیوتیک میزان حذف را افزایش و خطر مقاومت را کاهش می دهد. دوز مصرفی آنتی بیوتیک هایی که در درمان هلیکوباکتر پیلوری استفاده می

▣ این مقاله حاصل پایان نامه علی قربانی رنجبری دانشجوی دکتری دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون می باشد.

* مسئول مقاله: دکتر علی قربانی رنجبری
آدرس: باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحدکازرون. تلفن:۰۷۱-۴۲۲۴۳۹۳۱
E-mail:dr_alighorbani87@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.6.1]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.6]

شود بیشتر از دوزی است که برای دیگر عفونت های به کار می رود. این مساله برای دست یابی به غلظت های بالاتر دارو در موکوس معده، ضرورت دارد. ترکیب مهار کننده های پمپ پروتونی و آنتی بیوتیک ها از تجزیه آنتی بیوتیک ها در pH اسیدی لومینال معده جلوگیری می‌کند. از آن جایی که مهارکننده پمپ پروتونی و بلوک کننده های H2 قادر نیستند pH را به ۷ برسانند، آنتی بیوتیک هایی که برای درمان هلیکوباکتر پیلوری به کار می روند باید بتوانند در محیط اسیدی حداقل کارآمد باشند (۹). در بیشتر مطالعات انجام شده در ایران، مقاومت در حد ۶۰ تا ۷۰ درصد به مترونیدازول گزارش می شود (۱۰). درمطالعه Siavashi و همکاران در تهران، Fallahi و همکاران در دانشگاه تهران، Savari و همکارانش در کرمان و Rafeey و همکارانش در دانشگاه تبریز میزان مقاومت نسبت به مترونیدازول را در ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده به ترتیب ۹۵٪، ۳۵٪، ۷۱٪ و ۵۴/۱۶٪ گزارش نمودند (۱۴-۱۱).

همچنین Kohanteb و همکارانش و Tomatari و همکارانش در هلیکوباکترپیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به سوء هاضمه، میزان مقاومت به مترونیدازول را به ترتیب ۷۲/۶٪، ۶۴٪ گزارش نمودند (۱۶و۱۵). در مورد کلاریترومایسین نیز مقاومت از ۳ الی ۵۰ درصد در جهان متفاوت است (۱۸و۱۷). اما مقاومت به آموکسی سیلین درحد صفر درصد گزارش شده است (۱۹و۱۷). به واسطه مشکلات اجرایی در کشت و انجام تست های استاندارد تعیین حساسیت برای هلیکوباکتر پیلوری، هم اکنون اطلاعات اندکی در مورد میزان مقاومت آنتی بیوتیکی این باکتریها در استان فارس و ایران وجود دارد. هدف از این مطالعه نیز بررسی میزان مقاومت هلیکوباکتر پیلوری های بدست آمده از بیوپسی های معده مراجعین به بیمارستان شهید بهشتی به آنتی بیوتیک های رایج در درمان سه و چهار دارویی شهر شیراز است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی با نمونه گیری به روش آسان بر روی ۸۰ نفر بیمار مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان شهید بهشتی شهر شیراز در فصل بهار سال ۱۳۹۳ انجام شد. بیوپسی از قسمت آنتروم معده با آندوسکوپی و توسط فوق تخصص گوارش تهیه گردید. وسایل و محیط‌های لازم به بخش آندوسکوپی انتقال داده شد. نمونه ها با استفاده از محیط انتقال دهنده (Brain Heart Infusion) به بخش میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انتقال داده شد. کشت نمونه های بیوپسی بر محیط کلمبیا آگار غنی شده با ۵ درصد خون دفیبرینه گوسفندی، ۷ درصد سرم جنینی گاو، ونکومایسین، پلیمیکسین و تری متوپریم و در شرایط میکروآئروفیلیک و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۵ تا ۶ روز آنکوباتور CO_2 کشت داده شدند (۲۰). کلنی‌های مشکوک به هلیکوباکتر پیلوری مورد تست بیوشیمیایی، اکسیداز، کاتالاز و اوره آز قرار گرفتند.

واکنش زنجیره ای پلیمراز (PCR): استخراج DNA از نمونه های اخذ شده با استفاده از کیت تجاری آماده (DNeasy tissue mini kit Hilden, Germany) انجام گردید. DNA های استخراج شده بلا فاصله به دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد منتقل شد. بررسی مولکولی در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر حاوی ۱۰۰ نانو گرم از DNA استخراجی، ۲میکرولیتر بافر X۱۰، ۰/۲ میکرومول dNTP و ۱/۵ میکرو مول MgCl2 و ۲۵ پیکومول در میکرولیتر پرایمر و ۰/۵ واحد Taq DNA Polymerase انجام شد. توالی پرایمرها PCR در جدول ۱ ذکر شده است (۲۱). محصول PCR در نهایت روی ژل الکتروفورز قرار داده شد ونتیجه نهایی، زیر نور UV مورد بررسی قرار گرفت.

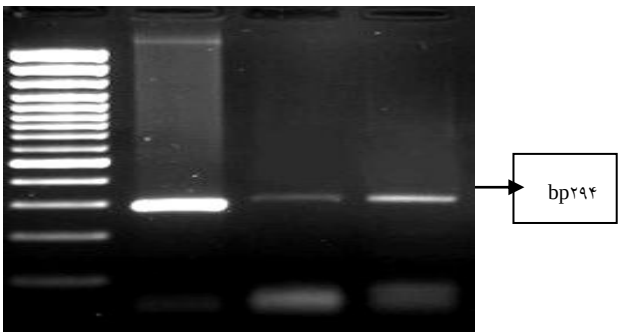
الگوی مقاومت دارویی: برای تعیین حساسیت هلیکوباکترپیلوری باکتری جدا سازی شده به ترکیبات ضدباکتریایی، از روش انتشار دیسک استفاده گردید. ابتدا کلنی ها را در محیط مایع مولرهینتون به ۰/۵ مک فورلان رسانده، سپس از آن بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار غنی شده با ۷ درصد خون دفیبرینه گوسفندی، کشت تهیه کرده و همزمان دیسک حاوی آنتی بیوتیک خریداری شده از شرکت پادتن طب بر روی محیط کشت قرار داده شد. پس از ۵ روز انکوباسیون در دمای $37^{o}C$ و شرایط میکروآئروفیلیک قطر هاله عدم رشد هلیکوباکترپیلوری تعیین گردید. برای آزمایش آنتی بیوگرام از ۴ دیسک آنتی بیوتیک شامل: مترونیدازول (۵ µg)، تتراسیکلین (۳۰ µg)، آموکسی سیلین (۲۵ µg) و کلاریترومایسین (۱۵ µg) و از روش استاندارد Kirby & Bauer استفاده شد. (۲۳و۲۲).

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت شناسایی ureC

پرایمر	توالی (´5-´3)	اندازه محصول (جفت باز)
ureC gene	F: GGA TAA GCT TTT AGG GGT GTT AGG GG R: GCT TAC TTT CTA ACA CTA ACG CGC	۲۹۴

یافته ها

بیوپسی متعلق به ۴۰ مرد و ۴۰ زن، ۵۹ مورد (۷۳/۷۵٪) کشت مثبت بدست آمد ۲۸ مورد مربوط به مردان و ۲۱مورد مربوط به زنان مورد پژوهش بود (تصویر ۱). میانگین سنی افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری ۳۹ سال بود که ۱۴ نمونه مربوط به افراد مبتلا به سوء هاضمه بدون نشانه، ۲۰ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم اثنی عشر، ۲۴ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم معده و ۱ نمونه مربوط به افراد مبتلا به سرطان معده بود. از این میان ۳۶ مورد (۶۱٪) مقاوم به مترونیدازول، ۱۹مورد (۳۲/۲٪) مقاوم به آموکسی سیلین، ۱۴ مورد (۲۳/۷۲٪) مقاوم به تتراسایکلین و کمترین مقاومت به هلیکوباکترپیلوری به میزان ۲ مورد (۳/۳۵٪) بود (جدول ۲).



شکل ۱. نتایج PCR ژن نمونه ها درژل آگاروز ۱/۵٪، ستون۱ از سمت چپ: مارکر ۱۰۰ bp، ستون۲ از سمت چپ: کنترل مثبت (هلیکوباکترپیلوری ۲۶۶۹۵ ATCC)، ستونهای ۳و ۴ ازسمت چپ نمونه های هلیکوباکترپیلوری

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.6.1]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.6]

جدول ۲. فراوانی هلیکوباکترپیلوری جداسازی شده بر حسب نمونه های بالینی

نتایج / نوع بیماری	موارد ureC مثبت تعداد(درصد)	موارد ureC منفی تعداد(درصد)	جمع تعداد(درصد)
سرطان معده	۱(۱/۶۹)	۱(۴/۷۶)	۲(۲/۵)
زخم دوازدهه	۲۰(۳۳/۸۹)	۷(۳۳/۳۳)	۲۷(۳۳/۷۵)
زخم معده	۲۴(۴۰/۶۷)	۱۰(۴۷/۶۱)	۳۴(۴۲/۵)
NUD	۱۴(۲۳/۷۲)	۳(۱۴/۲۸)	۱۷(۲۱/۲۵)
جمع	۵۹(۱۰۰)	۲۱(۱۰۰)	۸۰(۱۰۰)

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعه نشان داد که ۷۳/۷۵ درصد (۲۸ مورد مربوط به مردان و ۲۱ مورد مربوط به زنان مورد پژوهش) آلوده به هلیکوباکترپیلوری بودند. در کشورهای ژاپن و آمریکای جنوبی، ترکیه و پاکستان میزان شیوع بالاتر از ۸۰ درصد می باشد، اما در کشورهای اسکاندیناوی و انگلستان میزان شیوع بین ۲۰ تا ۴۰ درصد گزارش شده است (۲۵و۲۴). که نتایج مطالعه حاضر را تایید می نماید. همچنین میانگین سنی افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری ۳۹ سال بود. مطالعات انجام یافته در ایران میزان شیوع آلودگی در افراد ۵۵-۳۵ سال بین ۸۸/۴ تا ۹۳ درصد و در افراد ۶-۲۰ سال استان اردبیل و یزد به ترتیب ۴۷/۵ و ۳۰/۶ درصد و در افراد ۱۰ تا ۲۵ سال شهر تهران ۴۴/۹ درصد گزارش شده است (۲۷و۲۶). که با نتایج حاضر همخوانی دارد.

مطالعات انجام گرفته بروی میزان مقاومت سوش های هلیکوباکتر پیلوری به انواع آنتی بیوتیک ها، بسیار زیاد است. اکثر مطالعات انجام گرفته حاکی از آن است که سویه های هلیکوباکتر پیلوری هیچگونه مقاومتی به آموکسی سیلین از خود نشان نمی دهند. مطالعات انجام گرفته در آرژانتین (۲۸)، ژاپن(۲۹)، بلغارستان (۳۰)، مکزیک (۳۱)، فرانسه (۳۲)، ایتالیا (۳۳)، نیوزیلند (۳۴) میزان مقاومت را صفر درصد نشان می دهد. ولی در عربستان این مقاومت ۰/۴٪ (۲۲)، برزیل ۲۹٪ (۳۵) و در چین ۷۱/۹٪ (۲۳) گزارش شده است. در این مطالعه میزان مقاومت ۳۲/۲ درصد بود که البته نسبت به اکثر مطالعات مقاومت بالایی است. از میان هلیکوباکترپیلوری های جداسازی شده ۲۳/۷۲ درصد مقاوم به تتراسایکلین بود، مطالعه ای که توسط Mohammadi و همکاران در ایران صورت گرفته است میزان مقاومت به آموکسی سیلین را ۱/۷ درصد نشان می دهد که البته نسبت به مطالعه ما بسیار پایین است (۳۶). بیشترین میزان مقاومت ۶۱ درصد نسبت به مترونیدازول بود، میزان مقاومت به این آنتی بیوتیک در کشورهای مختلف بسیار متفاوت است. برای مثال میزان مقاومت در بلغارستان ۱۶٪ (۳۰) و در آرژانتین (۲۸)، ژاپن (۲۹)، مکزیک (۳۱)، لبنان (۳۷)، آمریکا (۳۸)، پرتغال (۳۹)، استرالیا (۴۰)، نیجریه (۴۱)، نیوزیلند (۳۴) بین ۴۰-۲۰٪ و در برزیل (۳۵)، فرانسه (۳۲)، کره (۴۲) بین ۶۰-۴۰٪ و در عربستان (۲۲)، آلمان (۴۳) بین ۸۰-۶۰٪ گزارش شده است. مطالعه انجام گرفته در ایتالیا نیز میزان مقاومت را ۱۰۰٪ نشان می دهد (۳۳). مطالعه ای که توسط Mohammadi و همکاران در ایران انجام شده است میزان مقاومت به مترونیدازول را ۷۵/۴٪ نشان می دهد (۳۶). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد کمترین میزان مقاومت هلیکوباکترپیلوری جداسازی شده نسبت به کلاریترومایسین به میزان ۳/۳۵ درصد بود. مقاومت هلیکوباکترپیلوری به کلاریترومایسین در جهان با مقادیر متفاوتی گزارش شده است در کشورهای پرتغال(۲۹)، کره جنوبی(۴۲)، چین(۲۳) و ایران (۳۶) میزان مقاومت حد اکثر ۲۰ درصد، اما در آلمان ۵۸ درصد (۴۳) و ایتالیا ۳۲درصد (۳۳) گزارش شده است. استفاده از کلاریترومایسین در مناطقی با مقاومت بالاتر از ۲۰ درصد باید با دقت بیشتری صورت پذیرد (۲۹). نتایج این مطالعه تاکید می‌کند که مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های رایج در رژیم های دارویی علیه هلیکوباکترپیلوری در حال افزایش است. از طرفی ما تا پایدار شدن آنتی بیوتیک های جدید، همچنان رژیم چند دارویی را برای درمان و ریشه کنی هلیکوباکترپیلوری توصیه می‌کنیم. در پایان نیز تاکید می‌کنیم که کشت و تعیین حساسیت برای تعیین الگوی مقاومت دارویی این باکتری در مناطق جغرافیایی مختلف پیش از شروع درمان ضروری به نظر میرسد و در منطقه مورد مطالعه مصرف کلاریترومایسین به عنوان درمان همراه با دیگر ترکیبات دارویی پیش نهاد می شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، ریاست و بخش پژوهشی بیمارستان شهید بهشتی شیراز به دلیل همکاری در انجام تحقیق، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.6.1]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.6]

Identification of the Prevalence of Resistance to Clarithromycin in Helicobacter Pylori Isolated from Gastric Biopsy via PCR Method

A. Ghorbani Ranjbary (DVM)[*1], Sh. Asmarian (PhD)[2], M. Marhamatizadeh (PhD)[3]

1.Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran
2.Departement of Phamacology, Faculty of Veterinary, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran
3.Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 17(5); May 2015; PP: 37-43
Received: July 21th 2014, Revised: Sep 24th 2014, Accepted: Feb 4th 2015.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Helicobacter pylori infection is the most common worldwide human infection, affecting approximately half of the world's population. One of the most important causes of failure in the treatment of helicobacter pylori infection is its resistance to antibiotics. The purpose of this study was to evaluate the antibiotic resistance of helicobacter pylori, isolated from patients, referring to Shahid Beheshti Hospital of Shiraz, Iran.

METHODS: In this cross-sectional study, biopsy samples were obtained from 80 patients, referring to the endoscopy department of Shahid Beheshti Hospital of Shiraz. Biopsy samples were transferred to the laboratory in thioglycollate broth. After conducting biochemical tests for final confirmation, PCR tests were performed. In order to perform an antibiotic resistance test, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) method was applied.

FINDINGS: Out of 80 cases, 59 samples (73.75%) were infected with helicobacter pylori. Among these cases, 36 samples (61%) were resistant to metronidazole, 19 samples (32.2%) were resistant to amoxicillin, and 14 samples (23.72%) were resistant to tetracycline. As the results indicated, resistance to clarithromycin was the lowest, reported in two cases (3.35%).

CONCLUSION: Considering the high resistance of samples to metronidazole, it is necessary to replace this antibiotic with clarithromycin or other antibiotics in therapeutic regimens.

KEY WORDS: *Helicobacter Pylori, Antibiotic Resistance, Clarithromycin*.

Please cite this article as follows:

Ghorbani Ranjbary A, Asmarian Sh, Marhamatizadeh M. Identification of the Prevalence of Resistance to Clarithromycin in Helicobacter Pylori Isolated from Gastric Biopsy via PCR Method. J Babol Univ Med Sci. 2015;17(5):37-43.

[*] Corresponding Author; A. Ghorbani Ranjbary(DVM)
Address: Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, I.R.Iran
Tel: +98 71 42243931
E-mail: dr_alighorbani87@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.6.1]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.6]

References

1-Kashifard M, Taheri H, Barzkar M. Intermediate dose and course furazolidone and amoxicillin versus metronidazole and amoxicillin in quadruple therapy for eradication of helicobacter pylori. J Babol Univ Med Sci. 2006;8(2):24-31. [In Persian].

2-Exner MM, Doig P, Trust TJ, Hancock RE. Isolation and characterization of a family of porin protein from helicobacter pylori. Infect and Immun. 1995;63(4):1567-72.

3-Moran AP, Knirel YA, Senchenkova SN, Widmalm G, Hynes SO, Jansson PE.. Phenotypic variation in molecular mimicry between Helicobacter pylori lipopolysaccharides and human gastricepithelial cell surface glycoforms. Acid-induced phase variation in Lewis(x) and Lewis(y) expression by H. Pylorilipopolysaccharides. J Biol Chem. 2002;227(8):5785-95.

4-Kersulyte D, Mukhopadhyay AK, Velapatiño B, Su W, Pan Z, Garcia C, et al. Differences in genotypes of Helicobacter pylori from different human population. J Bacteriol. 2000;182(11):3210-8.

5-Shokri Shirvani J, Rajabnia R, Tohidi F, Asmar M, Taheri H. Outbreak of cagA and iceA in H. Pylori strains isolated from patients with gastro duodenal diseases in Babol city. J Babol Univ Med Sci. 2008;10(1):46-53. [In Persian].

6-Kashifard M, Hajian K, Rasooli A. Comparison of serologic and histologic tests in detection of helicobacter pylori in patients with dyspepsia. J Babol Univ Med Sci. 2009;11(2):31-7. [In Persian].

7-Georgopoulos SD, Papastergiou V, Karatapanis S. Current options for the treatment of Helicobacter pylori. Expert Opin Pharmacother. 2013; 14(2):211-23.

8-Hardman JG, Limbird LE. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeulics. 10th edition. Mc Graw Hill. 2009; USA. PP: 1147-1155.

9-Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. N Engl J Med. 2002;347(15):1175-86.

10-Saberi-Firoozi M, Nejabat M. Experiences with helicobacter pylori treatment in Iran. Iran J Med Sci. 2006; 31(4):181-5.

11-Siavoshi F, Safari F, Doratotaj D, Khatami GR, Falahi GH, Mirnaseri MM. Antimicrobial resistance of Helicobacter pylori isolates from Iranian adults and children. Arch Iran Med. 2006;9(4):308-14.

12-Fallahi GH, Maleknejade S. Helicobacter pylori culture and antimicrobial resistance in Iran. Indian J Pediatr. 2007;74(2):127-30.

13-Savari M, Abdollahi H, Zahedi MJ, Moghadam SD, Hayat Bakhsh Abasi M. Antibiotic-resistance patterns of helicobacter pylori isolates obtained from patients in Kerman-2009. Kerman Univ Med Sci. 2010;18(1):73-82. [In Persian].

14-Rafeey M, Ghotaslou R, Nikvash S, Hafez AA. Primary resistance in Helicobacter pylori isolated in children from Iran. J Infect Chemother. 2007;13(5):291-5.

15-Kohanteb J, Bazargani A, Saberi-Firoozi M, Mobasser A. Antimicrobial susceptibility testing of Helicobacter pylori to selected agents by agar dilution method in Shiraz-Iran. Indian J Med Microbiol. 2007; 25(4):374-7.

16-Haghi Tomatari F, Mohabbati Mobarez A, Amini M, Hosseini D, Talebi Bezmin Abadi D. Helicobacter pylori resistance to metronidazole and clarithromycin in dyspeptic patients in Iran. Iran Red Crescent Med J. 2010;12(4):409-12.

17-Owen RJ, Peters TM, Varea R, Teare EL, Saverymuttu S. Molecular epidemiology of Helicobacter pylori in England: prevalence of cag pathogenicity island markers and IS605 presence in relation to patient age and severity of gastric disease. FEMS Immunol Med Microbiol. 2001;30(1):65-71.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.6.1]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.6]

18-Mini R, Bernardini G, Salzano AM, Renzone G, Scaloni A, Figura N, et al. Comparative proteomics and immunoproteomics of Helicobacter pylori related to different gastric pathologies. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2006;833(1):63-79.

19-Kobayashi I, Muraoka H, Hasegawa M, Saika T, Nishida M, Kawamura M, et al. In vitro anti-Helicobacter pylori activity of BAS-118, a new benzamide derivative. J Antimicrob Chemother. 2002; 50(1):129-32.

20-McNulty C, Owen R, Tompkins D, Hawtin P, McColl K, Price A, et al. Helicobacter pylori susceptibility testing by disc diffusion. J Antimicrob Chemother. 2002;49(4):601-9.

21-Labigne A, Cussac V, Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequencing of Helicobacter genes responsible for urease activity. J Bacteriol. 1991;173(6):1920-31.

22-Eltahawy AT. Prevalence of primary Helicobacter pylori resistance to several antimicrobials in a Saudi Teaching Hospital. Med princ pract. 2002;11(2):65-8.

23-Wu H, Shi XD, Wang HT, Lin jx. Resistance of helicobacter pylori to metronidazole, tetracycline and amoxicillin. J Antimicrob Chemother. 2000;46(1):121-3.

24-Ahmad T, Soheil Kh, Rizwan M, Mukhtar M, Bilal R, Khanum A. Prevalence of Helicobacter pylori pathogenecity associated cagA and vacA genotypes among Pakistanian dyspeptic patients. FEMS Immunol Med Microbiol. 2009;55(1):34-8.

25-Yamazaki Sh, Yamakawa A, Okuda T, Ohtani M, Suto H, Ito Y, et al. Distinct diversity of vacA, cagA and cagE genes of Helicobacter pylori associated with peptic ulcer in Japan. J Clin Microbial. 2005;43(8):3906-16.

26-Ghasemi-Kebria F, Asmar M, Angizeh AH, Behnam-Pour N, Bazouri M, Tazike E, et al. Seroepidemiology and determination of age trend of Helicobacter pylori contamination in Golestan province in 2008. Govaresh. 2009; 14(3):143-7. [In Persian]

27-Mikaeli J, Malekzadeh R, Ziad Alizadeh B, Nasseri Moghadam S, Valizadeh M, Khoncheh R, et al. Helicobacter pylori prevalence in two Iranian provinces with high and low incidence of gastric carcinoma. Tehran Univ Med J. 1999;57(1):34-8. [In Persian]

28-Alarcón T, Vega AE, Domingo D, Martínez MJ, López-Brea M. Clarithromycin reistance among Helicobacter pylori Strains isolated from children: Prevalence and study of mechanism of resistance by PCR- RFLP analysis. J Clin Microbiol. 2003; 41(1):486-8.

29-Wada S, Matsuda M, Shingaki M, Kai A, Takahashi S, Itoh T. Antimicrobial susceptibility tests and resistant strains of Helicobacter pylori. Kansenshogaku Zasshi. 2003;77(4):187-94.

30-Boyanova L, Koumanova R, Gergova G, Popova M, Mitov I, et al. Prevalence of resistant Helicobacter pylori isolates in Bulgarian children. J Med Microbiol. 2002;51(9):786-90.

31-Garza-González E, Pérez-Pérez GI, Alanís-Aguilar O, Tijerina-Menchaca R, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ. Antibiotic susceptibility patters of Helicobacter pylori strains isolated from northeastern Mexico. J Chemother. 2002;14(4):342-5.

32-Picot S, Sapin G, Michault A, Faulques B, Becquart JP, Simac C, et al. Antibiotic resistance of Helicobacter pylori in Reunion Island: therapeutic consequences. Bull Soc Pathol Exot. 2002;95(2):66-70.

33-Pilotto A, Rassu M, Leandro G, Franceschi M, Di Mario F, et al. Prevalence of Helicobacter pylori resistance to antibiotics in Northeast Italy: a multicentre study. GISU. Interdisciplinary Group for the Study of Ulcer. Dig Liver Dis. 2000;32(9):763-8.

34-Debets-Ossenkopp YJ, Herscheid AJ, Pot RG, Kuipers EJ, Kusters JG, Vandenbroucke-Grauls CM.. Prevalence of Helicobacter pylori resistance to metronidazole, claroyhromycin, amoxycillin, tetracycline and trovofloxacin in the Netherlands. J Antimicron Chemother. 1999;43(4):511-5.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.6.1]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.6]

35-Mendoca S, Ecclissato C, Sartori MS, Godoy AP, Guerzoni RA, Degger M, et al. Prevalence of Helicobacter pylori resistance to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin, tetracycline and furazolidone in Brezil. Helicobacter. 2000;5(2):79-83.

36-Mohammadi M, Doroud D, Massarrat S, Farahvash MJ. Clarithromycin resistance in Iranian Helicobacter pylori strains before introduction of clarithromycin. Helicobacter. 2003;8(1):80-5.

37-Sharara AI, Chedid M, Araj GF, Barada KA, Mourad FH.. Prevalence of Helicobacter pylori to metronidazole, clarithromycin, amoxicillin and tetracycline in Lebanon. Int J Antimicrob Agents. 2002;19(2):155-8.

38-Osato MS, Reddy R, Reddy SG, Penland RL, Graham DY. Comparision of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant Helicobacter pylori. Int J Antimicrob Agents. 2001;17(1):39-44.

39-Cabrita J, Oleastro M, Matos R, Manhente A, Cabral J, Barros R, et al. Features and trends in Helicobacter pylori antibiotic resistace in Lisbon area, Portugal (1990-9). J Antimicrob Chemother. 2000;46(6):1029-31.

40-Mollison LC, Stingemore N, Wake RA, Cullen DJ, McGechie DB. Antibiotic resistance in Helicobacter pylori. Mes J Aust. 2000;173(10):521-3.

41-Wang WH, Wong BC, Mukhopadhyay AK, Berg DE, Cho CH, Lai KC, et al. High prevalence of Helicobacter pylori infection with dual resistance to metronidazole and clarithromycin in Hong kong. Aliment Pharmacol Ther. 2000;14(7):901-10.

42-Kim JJ, Reddy R, Lee M, Kim JG, El-Zaatari FA, Osato MS, et al. Analysis of metronidazole, clarithromycin and tetracycline resistance of Helicobacter pylori from Korea. J Antimicrob Chemother. 2001;47(4):459-61.

43-Kalach N Bergeret M, Benhamou PH, Dupont C, Raymond J. High levels of resistance to metronidazole and clarithromycin in Helicobacter pylori strains in children. J Clin Microbiol. 2001;394-7.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.17.5.6.1]
[DOI: 10.22088/jbums.17.5.6]