عزل وتشخيص بكتريا Helicobacter pylori محلياً من المصابين بالقرح المعوية والمعدية باستخدام وسط انتقائي محوّر ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية

محمد رضاعبد الله البلداوي و ضحى سعد صالح

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد.

الخلاصة :

استحصلت خزعات نسيجية(Biopsies) من 103 مرضى مصابين بالقرح المعــوية والمعــدية وزرعت على وسطين انتقاليين: وسط سكرو(Skirrow) ووسط سكرو المحور (AL-Baldawi) حاوي على اغار – الدماغ – القلب المدعم بنسبة (5) % دم حصان متحلل ومضادات حياتية Vancomycin (10) مايكروغرام / م ليلتر و Trimethoprim (5) مايكروغرام / مليلتر و Polymyxin – B (2.5) وحدة عالمية / مليلتر و – Amphotericin B (5) مايكروغرام / مليلتر مع ملاحظة توفير الظروف المثلى للحضن .

بينت النتائج افضلية الوسط المحّور إذ كانت نسبة العزل (86.3) % بينما كانت نسبة العزل في وسط سكرو مساوية لـــ (74)% .

اظهرت النتائج ايضا ان المستعمرات العائدة لبكتريا Helicobacter pylori النامية من الخزعات النسيجية اكثر عدداً في وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) منها في وسط سكرو التقليدي كما لوحظ من النتائج ان نسبة التلوث في وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) اقل بكثير من نسبة التلوث في الوسط الانتقائي سكرو .

بينت نتائج تجارب الحساسية للمضادات الحيوية المستخدمة في النظام العلاجي لـــ (9) عزلات محلية انها مقاومة بنسبة (100) % لكل من ، Metronidazolو Amoxicillinو Ciprofloxacin كما انها حساسة بنسبة (100)% لكل من المضادات الحيوية Clarithromycin و Tetracycline وDoxycyclin و Cephotaxime .

تعكس هذه النتائج ضرورة التأكيد على استخدام نظام علاجي معين لايعتمد كليا على الاموكسسلين والمترونيدازول المستعملان عالميا في علاج القرح والالتهابات المعوية و المعدية .

المقدمة:

عزلت بكتريا Helicobacter pylori لاول مرة من قبل وارن (Warren) ومارشال Marshall في استراليا عام 1983 من معدة مرضى مصابين بالتهاب المعدة المزمن (1) ، تكون هذه البكتريا عصيات سالبة لملون غرام ، منحنية ، اليفة الهواء القليل (Microaerophilic) تســبب قرحــة او التهاب المعــدة وقرحة او التهاب الاثنى عشر (2) .

يمثل عــزل بكتريــا H.pylori من الخزعات المعدية الطريقة المثلى لتشخيص الاصابة بالرغم من صعوبة العزل (3) . وصفت العديد من الاوساط المصنعة لغرض عزل وتنمية H. pylori تحتوي هذه الاوساط على المصل او الدم او مح البيض او السايكلوديكسترين (4) .

تكون الاوساط الانتقائية الحاوية على المضادات الحيوية ذات اهمية كبيرة في عزل هذه البكتريا كونها تثبط النبيت الطبيعي (Normal flora) من التجويف الفموي ومن البلعوم. يمثل النبيت الطبيعي ملوثات للخزع المعدية ومن اهم افراده بكتريا Staphylococcus aureus والخمائر Yeast (5) .

لايمكن الحصول على نسبة عزل مقدارها (100) % باستخدام اي وسط انتقائي معروف لان نسبة التلوث للخزعات النسيجية تكون بنسبة (25) % تقريبا (6) . وفي الدراسة الحالية تم تحوير وسط سكرو الانتقائي و سمي وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) وقورنت نتائج العزل في الوسطين الانتقائيين سكرو (Skirrow) ووسط سكروالمحور (Albaldawi) ، كما درست

حساسية تسعة عزلات محلية للمضادات الحيوية المستخدمة في العلاج التقليدي.

المواد وطرائق العمل

1- العينات المرضية

اخذت ثلاثة خزعات معدية من 103 من المرضى المصابين بقرح او التهابات المعدة والاثنى عشر بوساطة ملقط الناظور (Endoscopic forceps) (ونقلت الى انابيب اختبار حاوية على 1 مليلتر من محلول الملح الفسلجي وحفظت الانابيب في صندوق مبرد .

اخذت العينات من المرضى المراجعين لمستشفى امراض الجهاز الهضمي والكبد التعليمي ومن مستشفى اليرموك التعليمي في الفترة من 1999/12/13 لغاية 2000/11/8 تراوحت اعمار المرضى من (16 – 81) سنة .

2- الاوساط الزرعية

* وسط سكرو Skirrow's medium و يتألف من:

– وسط اغار الدم الاساس رقم 2 (oxoid) وحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة و عقم بالموصدة بدرجة حرارة 121م° لمدة 15 دقيقة، و ترك ليبرد إلى درجة 50م° ،ثم أضيف إليه 5% من دم الحصان (كلية الطب البيطري /جامعة بغداد)، وكل من

– فانكومايسين 10 مايكروغرام/ مليلتر DBL – انكلترا

-ترايميثوبريم 5 مايكروغرام / مليلترالشركة العامة لصناعة الادوية / سامراء – العراق

– بولي ميكسين – ب 2.5 وحدة عالمية/مليلتر الشركة العامة لصناعة الادوية / سامراء – العراق

ثم صُبّ بأطباق بتري معقمة وترك ليبرد.

* وسط سكرو المحور (AL-Baldawi) وهو يتألف من :

وسط اغار نقيع القلب والدماغ (Oxoid) وحضر حسب تعليمات الشركة المصنعة ثم عقم بالموصدة بدرجة حرارة 121م° لمدة 15 دقيقة ، ثم ترك ليبرد إلى درجة 50م° ،ثم أضيف إليه 5% من دم الحصان (كلية الطب البيطري /جامعة بغداد)، وكل من:

– فانكومايسين10مايكروغرام/مليلتر DBL – انكلترا

– ترايميثوبريم 5 مايكروغرام/مليلتر الشركة العامة لصناعة الادوية/سامراء–العراق

– بولي ميكسين–ب 2.5 وحدةعالمية/مليلتر الشركةالعامة لصناعة الادوية / سامراء – العراق

– امفوترسين – ب 5 مايكروغرام/مليلتر SQUIBB انكلترا

ثبت الرقم الهيدروجيني للوسط إلى رقم 7 . ثم صُبّ بأطباق بتري معقمة وترك ليبرد.

3- الاستنبات Culturing

زرعت الخزعات النسيجية (biopsies) حسب طريقة بارسونات وجماعته (7) حيث تم مجانستها بالخلاط (homogenizer) وفي وقت لايتجاوز ساعتين بعد اخذها من المريض . نقل حجم 0.1 مليلتر من النسيج المتجانس وخطط على الوسطين الانتقائيين سكرو ووسط سكروالمحور(Albaldawi) بواقع طبقين لكل وسط .

وضعت الاطباق في حاوية لاهوائية واستخدمت عدة الغاز المجهزة من شركة اوكسويد لتوفير الظروف الغازية المطلوبة وهي: 5 % اوكسجين و 10 % ثاني اوكسيد الكربون و 85 % نتروجين وتم الحضن بدرجة 37 م° لمدة 3–5 ايام .

4- تشخيص بكتريا Helicobacter pylori

شخصت Helicobacter pylori اعتمادا على مصنف بيرغي والذي يصف مستعمراتها بصغيرة ، دائرية ، محدبة ، شفافة او رمادية، واشكال الخلايا عصوية منحنية او بشكل حرف (S) او حلزونية سالبة لملون غرام ذات حركة فعالة وايجابية لأختبارات الكاتلاز والاوكسيداز وفحص اليورياز السريع وكذلك استخدم اختبار حساسية العزلات للمضادين سيفالوثين (Cephalothin) وحامض النالدكسك (Nalidixic acid) .(8)

5-- فحص الحساسية للمضادات الحيوية

استخدمت طريقة باور عن هندلر (9) للمضادات الحيوية المبينة في الجدول رقم (1) ، واستخدمت العزلة القياسية *E. coli* HB 101 لتقييس فعالية المضادات الحيوية المستخدمة.

جدول (1)

يبين انواع المضادات الحيويةالمستخدمة في اختبار فحص الحساسية للمضادات الحياتية

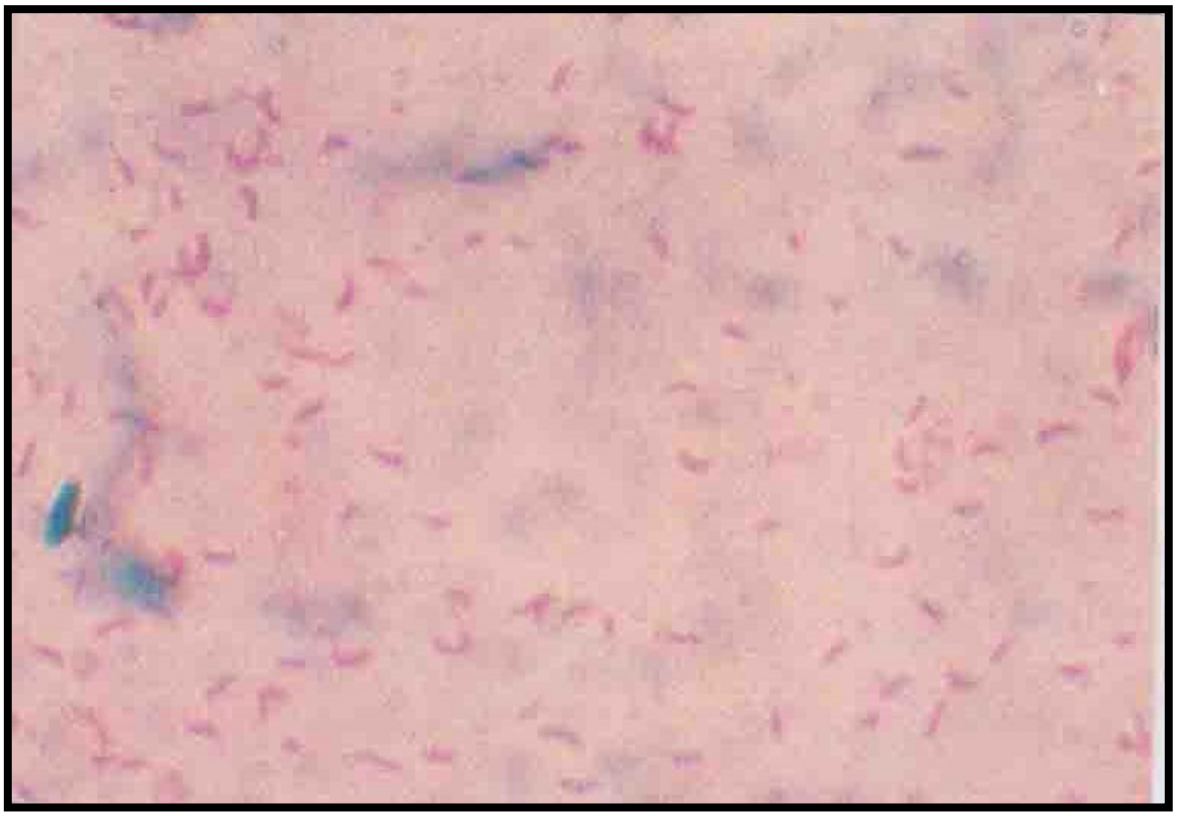
ت	المضاد الحيوي	الرمز	التركيز ميكروغرام/قرص	الشركة
1	اموكسسلين Amoxicillin	AML	10	Oxoid
2	ميترونيدازول Metronidazol	Mt	5	مركز الرازي للابحاث وانتاج العدد التشخيصية
3	كلارثرومايسين Clarithromycin	Crr	15	تم تحضيره مختبريا وتقييسه
4	تتراسايكلين Tetracyclin	TE	30	Oxoid
5	دوكسي سايكلين Doxycyclin	Do	30	Oxoid
6	سيفوتاكسيم Cephotaxime	CTX	30	Oxoid
7	سبروفلوكساسين Ciprofloxacin	Cip	5	تم تحضيره مختبريا وتقييسه

النتائج والمناقشة :

اولا : الوسطين الانتقائيين

ظهرت مستعمرات بكتريا Helicobacter pylori صغيرة ، دائرية ، محدبة ، شفافة (شكل 1) وظهرت الخلايا عصيات سالبة لملون غرام منحنية تشبه حرف (S) او حلزونية (شكل 2). واظهرت نتائج الفحوصات البايوكيميائية انها ايجابية لاختبارات انظيمات الكاتلاز والاوكسيداز وفحص اليورياز السريع كما واظهرت العزلات مقاومة للمضاد الحيوي Nalidixic acid وكانت جميع العزلات حساسة للمضاد الحيوي Cephalothin (الشكل 3) وهذا يطابق المواصفات التصنيفية المعتمدة عالميا (8) .

شكل (1) : مستعمرات بكتريا *Helicobacter pylori* نامية على وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) مدة 48 ساعةفي درجة حرارة 37 م . يلاحظ صغر حجم المستعمرات وشفافيتها .



شكل (2) : الاشكال المنحنية لبكتريا H.pylori نامية على وسط وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) لمدة 48ساعة في درجة حرارة 37 م يلاحظ فيها تعدد الاشكال للجرثومة . التكبير (1000X) .

شكل (3) : حساسية بكتريا H. pylori للمضاد الحياتي سيفالوثين ومقاومتها لحمض النالدكسك على وسط اغارالدم لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 37 م.

بمقارنة نتائج العزل في كل من الوسطين الانتقائيين اظهرت النتائج ان نسبة العزل في وسط سكرو هي (74) % بينما كانت 86.3% في وسط سكروالمحور(Albaldawi).كما اظهرت النتائج افضلية استخدام وسط سكروالمحور (Albaldawi) فيما يتعلق باعداد المستعمرات النامية حيث تم الحصول على 33 طبق باعداد مستعمرات تتجاوز المئة مستعمرة مقابل طبقين فقط باستخدام وسط سكرو . كما ان الاطباق الخالية من التلوث كانت 39 باستخدام وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) مقابل طبقين فقط باستخدام وسط سكرو(الجدول رقم 2) .

جدول رقم (2)

يبين اعداد المستعمرات ونسبة التلوث في وسط سكرو

ووسط سكروالمحور(Albaldawi) للعزل الاولي لبكتريا H. pylori .

الوسط	عزل H. pylori				التلوث					العدد الكلي
	±	+	++	+++	±	+	++	+++	*	
سكرو	17	29	6	2	13	5	28	6	2	54
البلداوي	4	7	19	33	18	3	1	2	39	63

(±) 1-10 مستعمرات . (+) 10-50 مستعمرة . (++) 50-100 مستعمرة

(+++) > 100 مستعمرة . * بدون تلوث .

تعطي هذه النتائج دعما كبيراً في افضلية وسط وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) على وسط سكرو حيث يسعى الباحثون في هذا المجال وفي ارجاء العالم المختلفة الى التغلب على صعوبة عزل جرثومة H. pylori بتوفير الاوساط الانتقائية والظروف الغازية المناسبة كونها شرهة واليفة الهواء القليل .

استخدمت اوساط اغنائية كثيرة كوسط اغار الجوكليت ووسط اغار نقيع القلب والدماغ المدعمة بدم الحصان بنسبة 7% (10) . كما استخدم اغار البروسيلا واغار نقيع القلب والدماغ المدعم بدم خروف بنسبة 5 – 10 % لاغراض العزل الاولي (11) . اضيفت مضادات الحياة بنسب متفاوتة الى الاوساط الاغنائية في محاولات للتخلص من التلوث الذي يشكل عقبة رئيسية في عزل بكتريا H.pylori ويكون مصدر التلوث ملامسة ملاقط الناظور للتجويف الفموي والبلعوم حيث تكون الملوثات Staphylococcus aureus وخمائر (Yeast) كما تظهر بكتريا Pseudomonas aeruginosa كملوثات رئيسة في زرع الخزعات النسيجية المعدية وتكون نسبة التلوث حوالي 25 % في النماذج السريرية (6) .

يحتوي وسط سكرو التقليدي على Vancomycin و Polymyxin B و Trimethoprim (12) ويحتوي وسط انتقائي آخر على Vancomycin و Trimethoprim و Amphotericin B و Cefosoldin (13) . ويحتوي وسط آخر على Vancomycin و Trimethoprim و Nalidixic acid و Amphotericin (4) . اما نتاج الدراسة الحالية فكانت وسط سكرو المحّور (Al_Baldawi) الحاوي على Vancomycin لتثبيط البكتريا الايجابية لملون غرام (الهوائية واللاهوائية) و Trimethoprim لتثبيط البكتريا الايجابية لملون غرام والبكتريا السلبية لملون غرام و Polymyxin B لتثبيط P. aeruginosa و Amphotericin B لتثبيط انواع الخمائر.

ثانيا: الحساسية لمضادات الحياة

يبين الجدول رقم (3) نسبة المقاومة الكلية لعزلات بكتريا *H. pylori* التي تم المحافظة عليها للمضادات الحيوية المستخدمة

جدول رقم (3) يمثل اقطار دائرة التثبيط للعزلات المختبرة ونسبة المقاومة الكلية للمضادات الحيوية المستخدمة

ت	المضادات الحياتية / رقم العزلة	اقطار دائرة التثبيط للعزلات المختبرة / ملم									عدد العزلات المقاومة	النسبة المئوية للمقاومة الكلية
		1	28	31	33	35	53	81	89	96		
1.	اموكسسلين	10	10	9	0	9	10	13	0	11	9	%100
2.	كلارثرومايسين	22	23	26	21	23	22	31	23	22	0	%0
3.	مترونيدازول	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	%100
4.	ننراسايكلين	32	31	32	33	31	31	37	30	32	0	%0
5.	دوكسي سايكلين	25	27	25	28	28	26	24	27	27	0	%0
6.	سبروفلوكساسين	0	9	8	0	9	10	0	0	7	9	%100
7.	سيفوتاكسيم	26	26	22	23	23	25	24	25	23	0	%0

يتبين من خلال النتائج ان العزلات المحلية لبكتريا H. pylori كانت مقاومة بنسبة 100 % للمضادات الحيوية Amoxicillin والـ Metronidazol والـ Ciprofloxacin وكانت حساسة بنسبة 100 % للمضادات الحيوية Clarithromycin و Tetracyclin و Doxycyclin و Cefotaxime كما هو واضح في الاشكال (4 و 5) .

شكل (4) يبين مقاومة بكتريا H. pylori (H 89) النامية على وسط اغار الدم في درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة للمضادين اموكسسلين ومترونيدازول وحساسيتها للكلارثرومايسين

شكل (5) يبين حساسية بكتريا H. pylori (H89) النامية على وسط اغار الدم في درجة حرارة37 م لمدة 24 ساعة للتتراسايكلين والدوكسي سايكلين والسيفوتاكسيم ومقاومتها للسبروفلوكساسين

ان مقاومة العزلات المحلية للمضاد Amoxicillin قد يكون سببه انتقال مورثه الانظيم B-lactamase الى جرثومة H. pylori من انواع اخرى من بكتريا مقاومة لهذا المضاد او عن طريق تحوير بروتينات ارتباط البنسلين (14) وتبدو هذه النتيجة غريبة نوعا ما في العـــراق حيث ســـجلت اغلب المنشـــورات حســـاسية فائقة لبكتريا H. pylori لمضاد الـــ Amoxicillin (14 ، 15).الا ان هناك ملاحظات اخرى سُجلت حول مقاومة بعض عزلات H. pylori للمضاد Amoxicillin (10 و 16) كما ان الـــ Amoxicillin يستخدم على نطاق واسع في العراق ولفترة لاتقل عن 15 سنة.

اما المقاومة للمضاد Metronidazol فقد تعود الى الاستخدام الواسع له في علاج كثير من الاخماج الطفيلية (Amoebiasis) واستخدامه في علاج امراض اللثة واللسان وتشير الدراسات الى ان نسبة مقاومة H. pylori لهذا المضاد تكون 95 % في البلدان النامية اما في الدول المتقدمة فتكون 11 – 70 % (17) .

يعود الـــ Ciprofloxacin الى الكوينولات التي يؤدي اســـتخدامها لفترة طويلة الى حـــدوث مقاومة ضـــدها وقد يفسر هذا سبب مقاومة H.pylori لهذا المضاد ووجدت نتائج مشابهة لبعض الدراسات حيث كانت ذراري H.pylori مقاومة بنسبة 20 – 28 % في دراسة اجريت في الهند (18) .

بينت نتائج الدراسة الحالية حساسية العزلات بنسبة 100 % للـــ Tetracyclin وتطابق هذه النتيجة نتيجة دراسات مماثلة (19 و 20) . تماثل نتائج الدراسة الحالية فيما يتعلق بحساسية H. pylori للـــ Doxycyclin نتائج دراسة اخرى (21) ولم تتوفر منشورات تشير الى استخدامه في الانظمة العلاجية . اماحساسية العزلات بنسبة 100% للمضادين الحيويين Clarithromycin و Cefotaxime فجاءت مطابقة لنتائج دراسات مشابهة (22 و 23) على التوالي.

References :

1- Warren , J. R. ; Marshall , B. J. (1983). Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis , Lancet, I : 1273 .

2- Labigne, A. & de Reuse, H. (1996). Review determinants of Helicobacter pylori pathogen city, Infect. Agen. And disea., 5 (4) : 191 – 202 .

3- Itoh, T.; Yanagawa , Y.; Sningaki, M. ; Takahashi, M. ; Kai, A. ; Ohashi,M. & Hamana, G. (1987). Isolation of Campylobacter pyloridis from human gastric mucosa and characterization of the isolation, Microbiol. Immunol., 31: 603 – 614. Abstract.

4- Hachem, C. Y. ; Clarridge, J. E. ; Evans, D. G. & Graham , D. Y. (1995) . Comparison of agar based media for primary isolation of Helicobacter pylori, J. Clin. Pathol., 48 : 714 – 716.

5- Krajden, S. ; Bohnen, J.; Anderson, J. ; Kempston, J. ; Fuksa, M. ; Matlow, A. ; Marcon, N. ; Haber, G. ; Kortan , P. ; Karmali,M. ; Corey, P. ; Petrea, C. ; Babida, C. & Hayman, S. (1987) . Comparison of selective and nonselective media for recovery Campylobacter pylori from Antral biopsies, J. Clin Microbiol., 25 : 1117 – 1118 .

6- Glupczynski,Y. (1998). Microbiological and serological diagnostic test for Helicobacter pylori : an overview, Brit. Med. Bull., (1) : 175 – 186 .

7- Parsonnat, J. ; Welch, K. ; Compton, C. ; Strauss, R. ; Timothy, W. ; Kelsey, P. & Ferraro , M. J. (1988) . Simple microbiological detection of Campylobacter pylori , J. Clin. Microbiol ., 26 (5) : 948 – 949 .

8- Holt, J. G. ; Krieg, N. R. ; Staley, J. T. &Williams, S. T. (1994) Group 2 aerobic / microaerophilic , motile , Helical / viberoid gram negative bacteria. In: Bergey's manual of determination bacteriology, pp. 42 – 48 . 19th edition, Williams & Wilkins, USA .

9- Hindler, J. (1998). Antimicrobial susceptibility testing . In : Essential procedures for Clinical microbiology, by: Isenberg, H. D., ASM press, Washington D.C.

10- Marshall, B. J. ; Royce, H. & Annear, D. L. (1984) . Original isolation of Campylobacter pyloridis from human gastric mucosa, Microbiol. Lett., 25 : 83 – 88 . Cited by : Buckley, M.J.M. & O'Morain, C.A. (1998). Helicobacter biology-discovery, Brit. Med. Bull., 54 (1) : 7 – 12 .
11- Taylor, D.E. ; Hargreares, J. A. ; Laiking, N. G. ; Sherbauink, R.W. & Jewell, L. D. (1987). Isolation and characterization of Campylobacter pyloridis from gastric biopsies, J. Clin. Pathol., 87 : 49 – 54 .
12- Skirrow, W. B. (1977) . Campylobacter enteritis :a " new " disease, BMJ , 2 : 9 – 11 .
13- Dent, J. C. & McNulty, C.A.M. (1988) . Evaluation of new selective media for Campylobacter pylori , Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 7: 555 – 568 .
14- Megraud, F. (1989). Microbiological characteristics of Campylobacter pylori, Eur. J. Gastroenterol. & Hepatol., 1 (1): 5 – 12 .
15- Borysiewicz, J. ; Bolek , A. ; Prazmowska, B. ; Komorowski , J. ; & Mikolajska, M. (1993) . Drug resistance of Helicobacter pylori strains isolated from patients with inflammation of stomach mucous membrane and peptic ulcer of stomach and duodenum, Med. Dosw. Microbiol., 45 (3) : 339 – 343 . Abstract .
16- Dor, M. P. ; Sepulred, A. R. ; Mura, I. ; Realdi, G. ; Osato,M. S. & Graham, D. Y. (1997) . Explanation for variability of Omeprazole Amoxicillin therapy ? Tolerance of Helicobacter pylori to Amoxicillin, Gastroenterol., 112 (4) : A 104 .
17- Reddy, R. M.; Osato, M. ; Gutierrez, O. ;Kim, J. G. &Graham, D.Y. (1996) . Metronidazole resistance is high in Koria and Columbia and appears to be rapidly increasing in the U.S., Gastroentrol., 10 : A236 .
18- Sharma, S. ; Parsad, K. N. ; Chamoli, D. & Ayyagari, A. (1995) . Antimicrobial susceptibility pattern & biotyping of Helicobacter pylori isolates from patients with peptic ulcer diseases., Indian J. Med. Res., 102 : 261 – 266 . Abstract .
19- Marshall, B. J. ; Mcgechie, D. B. ; Rogers, P. A. & Glancy, R. J. (1985) . Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease, M. J. A, 142 : 439 – 443 .
20- Daw, A. M. ; Seifenaser, N. E. & Hasan, M. H. (1997) . Pattern of Helicobacter pylori resistance to antimicrobials in Libya, SMJ, 18 (5) : 526 – 527 .
21- Flores, B. M. ; Fennell, C. L. ; Holmes K. K. & Stamm, W.E. (1985) . In vitro susceptibility of Campylobacter Like organisms to twenty Antimicrobial Agents, Antimicrob. Age. Chemother. 28 (2) : 188 – 191 .
22- Lambert, T. H. ; Megraud, F. ; Gerband, G. & courvalin, P. (1986) . Susceptibility of Campylobacter pylori to 20 antimicrobial agents, Antimicrob. Age. Chemother., 30 (3) : 510 – 511 .
23- Al-Jalili, F. Y. A. (1996) . Helicobacter pylori and peptic ulceration in Iraqi patients. Pathological and serological study. M. Sc. Thesis. College of Science, AL-Mustansyria University

Abstract

Biopsies from 103 Iraqi patients with gastric and duodenal ulcers were cultured by using two selective media for primary isolation of *Helicobacter pylori* , the first medium was Skirrow selective medium , the second was modified Skirrow selective medium (Al_baldawi) containing brain heart infusion agar supplemented with 5% lysed horse blood&antibiotics: Vancomycin (10µg/ml), Trimethoprim 5µg/ml, polymyxin-B (2.5) IU/ml and Amphotericin-B 5µg /ml.

Isolation percentage were 86.3% and 74% by using modified Skirrow selective medium (Al_baldawi) and Skirrow medium respectively .

Results showed that number of *H. pylori* colonies were greater in modified medium than that in Skirrow selective medium , also the results shows less contamination percentage by using modified Skirrow selective medium (Al_baldawi) than Skirrow

medium. These results indicated superiority of modified medium for primary isolation.

Antibiotic sensitivity test for (9) isolates indicates that *H. pylori* isolates were resistant (100) % to amoxicillin, metronidazol and ciprofloxacin while these isolates were sensitive (100) % to clarithromycin, tetracycline, doxycyclin and cephotaxime. These results clarify the importance of using specific regime therapy which is not absolutely involved a Amoxicillin and metronidazol, the two antibiotic that are used allover the world in gastroduodenal ulcers therapy.