مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و یکم/شماره ۲۲۳/هفته اول فروردین ماه ۱۳۹۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۵

مطالعه‌ی ژن flaA هلیکوباکتر پیلوری در سویه‌های کلینیکی جداشده از بیماران آندوسکوپی شده

معصومه مدحی[۱]، دکتر شراره مقیم[۲]، دکتر فرخنده پورسینا[۳]، دکتر پیمان ادیبی[۴]، فرزاد خادمی[۱]، دکتر زیبا فرج‌زادگان[۵]، دکتر حاجیه قاسمیان صفایی[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: تحرک در هلیکوباکتر پیلوری یکی از مهم‌ترین فاکتورهای کلونیزاسیون است که توسط فلاژل انجام می‌شود. فلاژل از ۳ قسمت پایه، قلاب و رشته تشکیل شده است. رشته دارای دو پروتئین FlaA، FlaB است که برای حرکت ضروری می‌باشند. ژن‌های کدکننده‌ی این دو پروتئین در سویه‌های استاندارد هلیکوباکتر پیلوری حفظ شده‌اند. هدف این مطالعه، بررسی فراوانی ژن flaA در سویه‌های کلینیکی هلیکوباکتر پیلوری جداشده از بیماران مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی و تعیین میزان حساسیت و ویژگی آن برای شناسایی هلیکوباکتر پیلوری بود.

روش‌ها: در این مطالعه ۱۰۰ بیوپسی معده که از مراکز درمانی تهیه شده بود، کشت داده شد. بعد از تأیید وجود باکتری، DNA آن استخراج گردید و برای تعیین ژن flaA واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase chain reaction یا PCR) با پرایمر طراحی شده انجام شد.

یافته‌ها: نتیجه‌ی PCR برای تمام نمونه‌های کلینیکی مثبت بود و تمام سویه‌های کلینیکی مورد آزمایش دارای ژن flaA بودند.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه همه‌ی نمونه‌های کلینیکی دارای ژن flaA بودند. از آن جایی که این ژن حفظ شده است و دارای شباهت زیاد با سویه‌های استاندارد هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد، بنابراین از این ژن می‌توان برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: پروتئین FlaA، ژن flaA، هلیکوباکتر پیلوری

ارجاع: مدحی معصومه، مقیم شراره، پورسینا فرخنده، ادیبی پیمان، خادمی فرزاد، فرج‌زادگان زیبا، قاسمیان صفایی حاجیه. **مطالعه‌ی ژن flaA هلیکوباکتر پیلوری در سویه‌های کلینیکی جداشده از بیماران آندوسکوپی‌شده.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۲؛ ۳۱ (۲۲۳): ۸-۱

مقدمه

هلیکوباکتر متعلق به Proteobacteria و خانواده‌ی Helicobacteraceae است. تا به امروز ۵۷ گونه از این باکتری شناسایی شده است که از مهم‌ترین آن‌ها که در انسان ایجاد بیماری می‌کند، هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد (۱).

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد به شماره‌ی ۳۹۰۵۱۲ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- استادیار، مرکز تحقیقات عفونت‌های بیمارستانی و گروه میکروب‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- مربی، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پرشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استاد، مرکز تحقیقات گاستروانترولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۵- دانشیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۶- دانشیار، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پرشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حاجیه قاسمیان صفایی
Email: ghasemian@med.mui.ac.ir

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی با ۴-۲ میکرومتر طول و به شکل اسپیرال است و دارای کلافه‌ی فلاژل (۶-۲ فلاژل) به طول ۳ میکرومتر در یک قطب خود می‌باشد (۲-۱). عفونت با تجمع نوتروفیل، ماکروفاژ و لنفوسیت در اپیتلیوم معده همراه است، ولی تعامل این میکروب با هپاران سولفات، ویترونکتین و اسید هیالرونیک از فعالیت فاگوسیتی ماکروفاژها جلوگیری می‌کند (۳). تهاجم سلولی در هلیکوباکتر وجود ندارد و یا بسیار نادر است. این باکتری به طور معمول به دنبال عفونت دهانی به همراه بزاق، که شامل ترکیبات سولفاته و سیالیده و مناسب برای اتصال هلیکوباکتر می‌باشد، وارد معده می‌گردد. باکتری برای فرار از شرایط اسیدی معده به حرکت توسط فلاژل نیاز دارد تا بعد از جای‌گیری در موکوس با کمک اوره‌آز شرایط اسیدی معده را خنثی کند. فلاژل باعث حرکت سریع ارگانیسم در موکوس معده و در نتیجه فرار باکتری از شرایط سخت و اسیدی معده می‌شود. این باکتری میکروآئروفیلیک و نوتروفیلیک است (۳) و به اکسیژن ۵-۲ درصد و دی اکسید کربن ۱۰-۵ درصد نیاز دارد که منطقه‌ی موکوسی معده این شرایط را دارد (۱). به علت شکل هلیکال، این باکتری به راحتی توسط فلاژل‌های قطبی خود در حالی که قسمتی از موکوس معده را به همراه دارد در داخل موکوس حرکت می‌کند، تا قبل از اتصالات اختصاصی خود از سیستم ایمنی محفوظ باشد (۳). این باکتری توانایی ایجاد عفونت‌های بدون علامت و یا Gastritis antral در کودکان و زخم‌های معده و دوازدهه در بزرگسالان را دارد و باعث افزایش خطر ابتلا به سرطان‌های معده مانند آدنوکارسینوما و لنفوم غیر هوچکینی در بزرگسالان می‌شود.

از عوامل ویرولانس که باعث ایجاد سرطان می‌شود، CagA (Cytotoxin-associated gene A) می‌باشد. به طور معمول در بیمارانی که با سویه‌های CagA+ (نوع ۱) آلوده شده‌اند، واکنش‌های التهابی دیده می‌شود. این افراد بیشتر در خطر زخم و سرطان معده قرار دارند؛ چرا که CagA توسط سیستم ترشحی نوع VI وارد سلول می‌شود و باعث تغییر در اسکلت سلولی و تولید لنفوکین‌ها می‌گردد (۳). البته در بیماران آلوده با CagA- هم زخم و سرطان دیده شده است که به علت عوامل دیگر بیماری‌زا مثل VacA (Vacuolating cytotoxin)، NAP (Neutrophil-activating protein) و غیره می‌باشد (۱). قبل از ایجاد بیماری این باکتری باید در محل مناسبی جای‌گیری کند. از مهم‌ترین عواملی که در کلونیزاسیون باکتری مؤثر هستند، می‌توان به فلاژل و اوره‌آز باکتری اشاره کرد (۴). این باکتری به علت دارا بودن فلاژل، به شدت متحرک می‌باشد و اگر فلاژل خود را به هر دلیلی از دست بدهد، با وجود این که قادر به اتصال به موکوس است، ولی توانایی ورود به داخل آن را نخواهد داشت و در نتیجه به راحتی از روی موکوس شسته می‌شود (۴).

فلاژل به طور کلی از ۳ قسمت تشکیل شده است که شامل پایه (Basal body) که در دیواره‌ی سلولی قرار گرفته است. قلاب که پایه و رشته را به هم متصل می‌کند و رشته که از دو آنتی‌ژن flaA و flaB تشکیل شده است (۷-۵). بیش از ۴۰ پروتئین در پیکره‌بندی و بیوسنتز فلاژل دخالت دارند که ژنوم آن‌ها به ۳ دسته (کلاس) تقسیم‌بندی شده است که دو دسته‌ی آن شامل flaB جزء ژن‌های کلاس دو

می‌باشد که در زنجیر منفی DNA قرار دارد و flaA جزء ژن‌های کلاس سه می‌باشد که در زنجیر مثبت DNA قرار دارد (۹-۸). flaA و flaB دو آنتی‌ژن مهم فلاژل می‌باشند که در تمام ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری وجود دارند (۱۲-۱۰). flaA با وزن مولکولی ۵۳ کیلودالتون در قسمت فوقانی فلاژل قرار دارد و شامل ۵۱۰ اسید آمینه می‌باشد که توسط flaA با ۱۵۳۳ نوکلئوتید حفظ‌شده، کد می‌شود (۱۳، ۷، ۴).

با توجه به این که ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری احتمال بروز بیماری‌های گوارشی و یا حتی سرطان‌ها را افزایش می‌دهد، بهتر است روشی جهت شناسایی زودرس این باکتری در افراد مشکوک به مبتلا به آن، به کار رود. هدف این مطالعه، بررسی فراوانی ژن flaA در سویه‌های کلینیکی هلیکوباکتر پیلوری جداشده از نمونه‌های بیوپسی بیمارانی که آندوسکوپی شده بودند، بود.

روش‌ها

محیط کشت بروسلا آگار (Fluka) بر طبق بروشور تهیه شد و بعد از اتوکلاو، آمفوتریسین و L سیستئین در شرایط استریل توسط فیلتر سرنگی، به آن اضافه گردید (برای ۵۰۰ سی‌سی محیط کشت ۰/۰۱ گرم آمفوتریسین و ۱ گرم L سیستئین اضافه شد). سپس FBS (Fetal bovine serum) ۱۰-۵ درصد و خون انسانی و همچنین Campylobacter selective supplement (HIMEDIA) که حاوی ۲ میلی‌گرم وانکومایسین، ۰/۰۵ میلی‌گرم پلی‌میکسین و ۱ میلی‌گرم تری‌متوپریم بود، در شرایط استریل به محیط اضافه شد و محیط محلول در پلیت‌ها تقسیم شد.

از هر بیمار دو بیوپسی معده توسط متخصص گوارش گرفته شد. یکی از آن‌ها به محیط ترانسپورت و دیگری به محیط Rapid urease منتقل گردید. بیوپسی‌های اوره‌آز مثبت، سریع و تحت شرایط استریل در کنار شعله توسط دو لام استریل له شدند و موکوس آن‌ها به سرعت به محیط کشت منتقل گردید. محیط‌های کشت داخل جار مارت (Mart jar) قرار داده شدند و گازهای N_2 ۸۰ درصد، CO_2 ۱۰ درصد و H_2 ۱۰ درصد توسط Anoxomat mart به جار منتقل گردید. سپس جار در انکوباتور ۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. لازم به ذکر است که هلیکوباکتر پیلوری دارای کلونی‌های شبنمی است و به شدیدا اوره‌آز مثبت می‌باشد و در رنگ‌آمیزی گرم به شکل اشکال ویرگول دیده می‌شود. در این مطالعه برای استخراج DNA از کیت کیاژن QIAamp DNA mini kit (50) با شماره‌ی ۵۱۳۰۴ استفاده شد.

سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR یا Polymerase chain reaction) توسط پرایمر A طراحی شده، انجام گردید. پرایمر A دارای ۶۴۷ جفت باز بود و برای موقعیت ۶۵۵-۹ از ژن flaA هلیکوباکتر پیلوری ۲۶۶۹۵، طراحی شده بود. توالی فوروارد و ریورس آن شامل F-TCAGGTCAATACGGATATCAATGC و R-CTGCTAATGCGCCAATCC بود.

برای انجام PCR از ۱۸ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه، ۲/۵ میکرولیتر بافر ×۱۰، ۱/۵ میکرومول $MgCl_2$، ۲ میکرولیتر از دو پرایمر (F و R)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۵ واحد Taq polymerase و یک میکرولیتر DNA استفاده شد.

سیکل‌های PCR به ترتیب زیر تنظیم گردید:

سیکل اول ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه، سپس ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد دوم برای ۳۰ ثانیه، به مدت ۳۰ ثانیه دمای ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد برای Annealing، ۳۰ سیکل در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد دوم برای ۷ دقیقه.

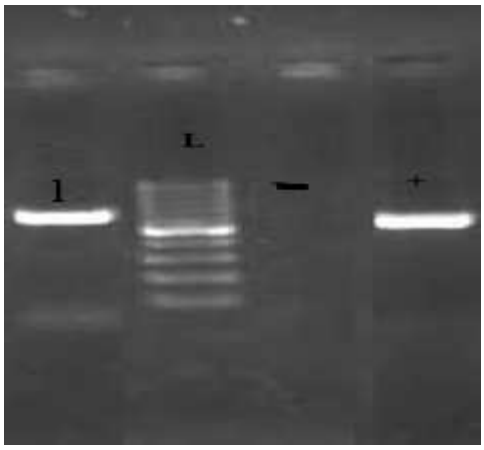
دستگاه PCR مورد استفاده در این مطالعه، Eppendorf و Biometra ساخت کشور آلمان بودند. برای تأیید PCR، ژل الکتروفورز انجام شد. ابتدا بافر TBE × ۰/۵ ساخته شد و ۴۰ سی‌سی از آن با ۰/۶ گرم پودر آگارز برای ساختن ژل ۱/۵ درصد مخلوط و در ماکروویو ۴۵۰ وات به مدت ۶۰ ثانیه قرار داده شد. بعد از کاهش دما (به طوری که ژله نبندد) ۲ میکرولیتر DNA green viewer اضافه شد و سریع به سینی مخصوص ژل الکتروفورز منتقل گردید. سپس باندها توسط دستگاه Uvitec نمایش داده شد. نمونه‌ی استاندارد در این مطالعه هلیکوباکتر پیلوری ۲۶۶۹۵۹ بود.

حساسیت و ویژگی پرایمر طراحی‌شده در این مطالعه به صورت بیوانفورماتیک و با کمک دو فرمول حساسیت (نسبت مثبت‌های واقعی به مجموع مثبت‌های واقعی و منفی‌های کاذب) و ویژگی (نسبت منفی‌های واقعی به مجموع منفی‌های واقعی و مثبت‌های کاذب) محاسبه شد. در این مطالعه سویه‌های استاندارد هلیکوباکتر پیلوری که در سایت NCBI ثبت شده بودند، به عنوان مثبت واقعی در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه از ۱۰۰ بیوپسی، ۲۰ باکتری هلیکوباکتر پیلوری جداسازی شد و با رنگ‌آمیزی گرم و تست اوره‌آز، کاتالاز و اکسیداز مورد تأیید قرار گرفت.

تمام ۲۰ سویه‌ی کلینیکی جداشده دارای باند شارپ بودند. محصول PCR توسط شرکت Bioneer توالی‌یابی شد و برای تأیید بیشتر بلاست نوکلئوتیدی در سایت NCBI انجام گردید (شکل ۱).



شکل ۱. PCR انجام‌شده با پرایمر A و DNA از سویه‌های کلینیکی. ستون ۱: نمونه‌ی کلینیکی، ستون L: Ladder، ستون +: سویه‌ی استاندارد هلیکوباکتر پیلوری، ستون -: شاهد منفی

برای تعیین حساسیت و ویژگی ابتدا ۴۰ سویه‌ی استاندارد هلیکوباکتر پیلوری که در NCBI ثبت شده بودند، تعیین و به عنوان مثبت واقعی در نظرگرفته شدند و ۵۶ سویه ی هلیکوباکتر نان‌پیلوری به عنوان مثبت کاذب در نظر گرفته شدند. به کمک پرایمر بلاست در سایت NCBI، متوجه شدیم که پرایمر A (پرایمر طراحی‌شده در این مطالعه) قادر به شناسایی تمام ۴۰ سویه ی استاندارد می‌باشد. بنابراین حساسیت این پرایمر در شناسایی هر ۴۰ سویه ی استاندارد هلیکوباکتر پیلوری ۱۰۰ درصد محاسبه شد، ولی از آن جایی که این پرایمر قادر به شناسایی سویه‌ی Helicobacter acinonychis str. Sheeba نیز بود، بنابراین ویژگی پرایمر A در شناسایی هلیکوباکتر

پیلوری ۹۸ درصد محاسبه گردید. با توجه به این که کل ۲۰ نمونه‌ی هلیکوباکتر و نمونه‌ی استاندارد (هلیکوباکتر پیلوری ۲۶۶۹۵۹) در PCR انجام شده با پرایمر A مثبت بودند، استفاده از پرایمر A با حساسیت ۱۰۰درصد و ویژگی ۹۸ درصد برای شناسایی مولکولی هلیکوباکتر پیلوری مناسب بود.

بحث

بر اساس گزارش مرکز کنترل بیماری‌های آمریکا شیوع هلیکوباکتر پیلوری در کشورهای در حال توسعه ۷۰ درصد و در آمریکا و دیگر کشورهای غربی بین ۳۰ تا ۴۰ درصد می‌باشد (۱۴). بر اساس گزارش (World Gastroenterology Organization) WGO نیمی از جمعیت جهان مبتلا به هلیکوباکترپیلوری می‌باشند. ابتلا به هلیکوباکتر پیلوری به منطقه‌ی جغرافیایی، شرایط آب و هوایی، سن، جنس و شرایط اجتماعی- اقتصادی بستگی دارد، ولی با این وجود شاهد افزایش آن در برخی مناطق دنیا می‌باشیم. بنابراین شناسایی به موقع و درمان مناسب آن از ابتلا به بیماری‌های لاعلاج جلوگیری خواهد کرد (۱۵).

آزمایشاتی که برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری بر اساس آنتی‌ژن‌های CagA، HSP (Heat shock protein) انجام می‌شود، ارزشمند نمی‌باشد؛ چرا که پروتئین‌های مشابه HSP در سایر باکتری‌های انتریک هم شناسایی شده‌اند. همچنین هلیکوباکتر پیلوری به دو صورت CagA+، CagA- می‌باشد (۱۷-۱۶، ۳). بنابراین، این آزمایش‌ها برای تشخیص قطعی هلیکوباکتر پیلوری مناسب نیستند. به همین دلیل یافتن آنتی‌ژنی که مختص هلیکوباکتر پیلوری و سویه‌های آن باشد، برای شناسایی دقیق و زودهنگام ارگانیسم و در نتیجه درمان آن و جلوگیری از بروز مشکلات بعدی مثل سرطان بسیار لازم است. بر اساس مطالعاتی که روی ۱۵۱ نمونه انجام شد، ژن‌های flaA، flaB، ureB، hapB و napA بسیار حفظ شده هستند و بیان FlaA، Flab، Ureb و Hapb در ۱۰۰ درصد ایزوله‌ها صورت می‌گیرد (۶).

بر اساس مطالعه‌ی انجام شده روی ۱۲۶ بیمار شباهت توالی نوکلئوتیدی گونه‌ی Yo6 هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با سکانس flaA موجود در GBank (Genbank) استرین‌های ۱-۸۹۸، J99 ۲۶۶۹۵ ۹۶/۲۸ تا ۹۷/۱۳ درصد و شباهت توالی اسیدهای آمینه‌ی آن‌ها ۹۹/۶۱ تا ۹۹/۸۰ درصد بود (۵).

از لحاظ بالینی شناسایی عفونت هلیکوباکتر پیلوری نیازمند آزمایش تشخیصی است که ارزان، دقیق و قابل دسترس باشد. بر اساس مطالعات انجام شده حساسیت Rapid urea test بین ۹۸- ۸۹ درصد و ویژگی آن ۹۹ درصد، حساسیت PCR ۹۶ درصد و ویژگی آن ۱۰۰ درصد، حساسیت تست ELISA سرولوژی بین ۹۲-۸۵ درصد و ویژگی آن بین ۸۳- ۷۹ درصد و حساسیت Stool antigen test ۹۳/۱ درصد و ویژگی آن ۹۵ درصد می‌باشد. به علاوه، حساسیت UBT (Urea breath test) ۹۵ درصد و ویژگی آن ۹۶ درصد، حساسیت کشت ۹۸ درصد و ویژگی آن در شرایط مناسب ۱۰۰ درصد است (۱۹-۱۸، ۱۵). در آزمایشگاه‌های بالینی، بیشتر از روش‌های سرولوژیک به خصوص ELISA و نیز Stool antigen test برای شناسایی هلیکوباکتر پیلوری استفاده می‌شود و در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی

روش‌های مولکولی که برای تأیید حضور DNA هلیکوباکتر پیلوری صورت می‌گیرد، بیشتر بر اساس PCR با پرایمرهای glmM است (۲۳-۲۰). در این مطالعه با توجه به این که کل ۲۰ نمونه‌ی هلیکوباکترپیلوری و نمونه‌ی استاندارد (هلیکوباکتر پیلوری ۲۶۶۹۵۹) در PCR انجام شده با پرایمر A مثبت بودند، استفاده از پرایمر A با حساسیت ۱۰۰ درصد و ویژگی ۹۸ درصد برای شناسایی مولکولی هلیکوباکتر پیلوری پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتیجه‌ی حاصل از این مطالعه استفاده از پرایمر A را برای شناسایی و تأیید هلیکوباکتر پیلوری در آزمایشگاه‌های بالینی و تحقیقاتی پیشنهاد می‌کند.

تشکر و قدردانی

مؤلفین از همکاری صمیمانه‌ی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و استادان و کارکنان گروه میکروب‌شناسی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

1. Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori Infection. Clin Microbiol Rev 2006; 19(3): 449-90.
2. van Amsterdam K, van der Ende A. Helicobacter pylori HP1034 (ylxH) is required for motility. Helicobacter 2004; 9(5): 387-95.
3. Dubreuil JD, Giudice GD, Rappuoli R. Helicobacter pylori interactions with host serum and extracellular matrix proteins: potential role in the infectious process. Microbiol Mol Biol Rev 2002; 66(4): 617-29, table.
4. Eaton KA, Suerbaum S, Josenhans C, Krakowka S. Colonization of gnotobiotic piglets by Helicobacter pylori deficient in two flagellin genes. Infect Immun 1996; 64(7): 2445-8.
5. Yan J, Liang SH, Mao YF, Li LW, Li SP. Construction of expression systems for flaA and flaB genes of Helicobacter pylori and determination of immunoreactivity and antigenicity of recombinant proteins. World J Gastroenterol 2003; 9(10): 2240-50.
6. Tang RX, Luo DJ, Sun AH, Yan J. Diversity of Helicobacter pylori isolates in expression of antigens and induction of antibodies. World J Gastroenterol 2008; 14(30): 4816-22.
7. Kostrzynska M, Betts JD, Austin JW, Trust TJ. Identification, characterization, and spatial localization of two flagellin species in Helicobacter pylori flagella. J Bacteriol 1991; 173(3): 937-46.
8. Jimenez-Pearson MA. Characterization of the mechanisms of two-component signal transduction involved in motility and chemotaxis of Helicobacter pylori [Thesis]. Wurzburg, Germany: Julius-Maximilians University; 2005.
9. Ryan KA, Karim N, Worku M, Moore SA, Penn CW, O'Toole PW. HP0958 is an essential motility gene in Helicobacter pylori. FEMS Microbiol Lett 2005; 248(1): 47-55.
10. Merkx-Jacques A, Obhi RK, Bethune G, Creuzenet C. The Helicobacter pylori flaA1 and wbpB genes control lipopolysaccharide and flagellum synthesis and function. J Bacteriol 2004; 186(8): 2253-65.
11. Niehus E, Ye F, Suerbaum S, Josenhans C. Growth phase-dependent and differential transcriptional control of flagellar genes in Helicobacter pylori. Microbiology 2002; 148 (Pt 12): 3827-37.
12. Hashemi MR, Rahnavardi M, Bikdeli B, Dehghani ZM. H pylori infection among 1000 southern Iranian dyspeptic patients. World J Gastroenterol 2006; 12(34): 5479-82.
13. Clyne M, Ocroinin T, Suerbaum S, Josenhans C, Drumm B. Adherence of isogenic flagellum-negative mutants of Helicobacter pylori and Helicobacter mustelae to human and ferret gastric epithelial cells. Infect Immun 2000; 68(7): 4335-9.
14. Brunette GW. CDC health information for international travel 2012: The Yellow Book. New York, NY: Oxford University Press; 2011.
15. Ferenci P, Fried M, Labrecque D, Bruix J, Sherman M, Omata M, et al. World Gastroenterology Organisation Guideline. Hepatocellular carcinoma (HCC): a global perspective. J Gastrointestin Liver Dis 2010; 19(3): 311-7.
16. Yan J, Mao YF, Shao ZX. Frequencies of the expression of main protein antigens from Helicobacter pylori isolates and production of

specific serum antibodies in infected patients. World J Gastroenterol 2005; 11(3): 421-5.
17. Ghasemian Safaei H, Tavakkoli H, Mojtahedi A, Salehei R, Soleimani B, Pishva E. Correlation of cagA positive Helicobacter pylori Infection with clinical outcomes in Alzahra hospital, Isfahan, Iran. J Res Med Sci 2008; 13(4): 196-201.
18. Faruqui AN, Majid U, Ahmad L, Khalil M, Hassan MU. Helicobacter pylori stool antigen test (HpSA) for the diagnosis of gastric infection. J Coll Physicians Surg Pak 2007; 17(6): 316-9.
19. Versalovic J. Helicobacter pylori. Pathology and diagnostic strategies. Am J Clin Pathol 2003; 119(3): 403-12.
20. Espinoza MG, Vazquez RG, Mendez IM, Vargas CR, Cerezo SG. Detection of the glmM gene in Helicobacter pylori isolates with a novel primer by PCR. J Clin Microbiol 2011; 49(4): 1650-2.
21. Quaglia NC, Dambrosio A, Normanno G, Celano GV. Evaluation of a Nested-PCR assay based on the phosphoglucosamine mutase gene (glmM) for the detection of Helicobacter pylori from raw milk. Food Control 2009; 20(2): 119-23.
22. De RH, Labigne A, Mengin-Lecreulx D. The Helicobacter pylori ureC gene codes for a phosphoglucosamine mutase. J Bacteriol 1997; 179(11): 3488-93.
23. Lu JJ, Perng CL, Shyu RY, Chen CH, Lou Q, Chong SK, et al. Comparison of five PCR methods for detection of Helicobacter pylori DNA in gastric tissues. J Clin Microbiol 1999; 37(3): 772-4.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 08.11.2012
Vol. 31, No. 223, 1st Week, April 2013
Accepted: 24.01.2013

Evaluating Helicobacter Pylori FlaA in Clinical Isolates from Alzahra Hospital, Isfahan, Iran

Masoomeh Madhi[1], Sharareh Moghim PhD[2], Farkhondeh Pursina PhD[3], Peyman Adibi MD[4], Farzad Khademi[1], Ziba Farajzadegan MD[5], Hajieh Ghasemian Safaei PhD[6]

Original Article

Abstract

Background: This study aimed to survey the presence of flagellin gene flaA in isolated Helicobacter pylori.

Methods: One hundred gastric biopsies were collected by a gastroenterologist and inoculated in enrichment medium under microaerophilic conditions. DNA was extracted and polymerase chain reaction (PCR) was performed using the designed primer.

Findings: PCR products showed that all extracted DNA were positive for flaA gene.

Conclusion: We found flaA gene to be present in all clinical isolates. As it is highly similar to standard Helicobacter pylori strains, it can be used to detect the mentioned bacteria.

Keywords: Flagellin, FlaA gene, Helicobacter pylori

Citation: Madhi M, Moghim Sh, Pursina F, Adibi P, Khademi F, Farajzadegan Z, et al. **Evaluating Helicobacter Pylori FlaA in Clinical Isolates from Alzahra Hospital, Isfahan, Iran.** J Isfahan Med Sch 2013; 31(223): 1-8

* This paper is derived from a MSc thesis No. 390512 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- MSc Student, Department of Microbiology, School of Medicine AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Nosocomial Infection Research Center AND Department of Microbiology, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Instructor, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Professor, Gastroenterology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5- Associate Professor, Department of Community Medicine, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
6- Associate Professor, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Hajieh Ghasemian Safaei PhD, Email: ghasemian@med.mui.ac.ir