

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 پلیمرز (PCR یا Polymerase chain reaction) 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

این باکتری شناسایی شده است که از مهم‌ترین آن‌ها که در انسان ایجاد بیماری می‌کند، هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد (۱).

هلیکوباکتر متعلق به Proteobacteria و خانواده‌ی Helicobacteraceae است. تا به امروز ۵۷ گونه از

* 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، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
- ۳- مربی، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، 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 پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: ghasemian@med.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حاجیه قاسمیان صفایی

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی با ۲-۴ میکرومتر طول و به شکل اسپیرال است و دارای کلافه‌ی فلاژل (۲-۶ فلاژل) به طول ۳ میکرومتر در یک قطب خود می‌باشد (۱-۲). عفونت با تجمع نوتروفیل، ماکروفاژ و لنفوسیت در اپیتلیوم معده همراه است، ولی تعامل این میکروب با هیپاران سولفات، ویتروکتین و اسید هیالرونیک از فعالیت فاگوسیتی ماکروفاژها جلوگیری می‌کند (۳). مهاجم 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 سولفات 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 ارگانیزم 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 ۲-۵ درصد و دی‌اکسید 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 ویروالانس 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 (۵-۷). بیش از ۴۰ پروتئین در پیکره‌بندی و بیوستز فلاژل دخالت دارند که ژنوم آن‌ها به ۳ دسته (کلاس) تقسیم‌بندی شده است که دو دسته‌ی آن شامل flaB جزء ژن‌های کلاس دو

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 ساتی‌گراد قرار داده شد. لازم به ذکر است که هلیکوباکتر پیلوری دارای کلونی‌های شبمی 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 کایژن (50) QIAamp DNA mini kit با شماره‌ی ۵۱۳۰۴ استفاده شد.

سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراس (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 فـوروارد و رـیـورس آن شـامل F-TCAGGTCAATACGGATATCAATGC و R-CTGCTAATGCGCCAATCC بود.

برای انجام PCR از ۱۸ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه، ۲/۵ میکرولیتر بافر $\times 10$ ، 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:

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 حفظ شده، کد می‌شود (۴، ۷، ۱۳).

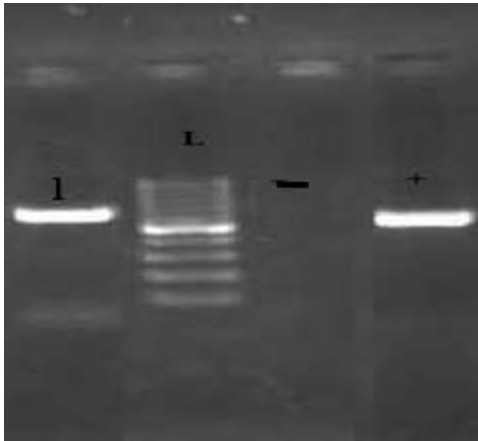
با توجه به این که ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری احتمال بروز بیماری‌های گوارشی و یا حتی سرطان‌ها را افزایش می‌دهد، بهتر است روشی جهت شناسایی زودرس این باکتری در افراد مشکوک به مبتلا به آن، به کار رود. هدف این مطالعه، بررسی فراوانی ژن flaA در سویه‌های کلینیکی هلیکوباکتر پیلوری جداشده از نمونه‌های بیوپسی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

روش‌ها

محیط کشت بروسلا آگار (Fluka) بر طبق بروشور تهیه شد و بعد از اتوکلاو، آمفوتریسین و L سسیستین در شرایط استریل توسط فیلتر سرنگی، به آن اضافه گردید (برای ۵۰۰ سی‌سی محیط کشت ۰/۰۱ گرم آمفوتریسین و ۱ گرم L سسیستین 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

اوره‌آز، کاتالاز و اکسیداز مورد تأیید قرار گرفت. تمام ۲۰ سویه‌ی کلینیکی جداشده دارای باندهای 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 ۲: سویه‌ی استاندارد هلیکوباکتر پیلوری، ستون ۳: 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 نظر گرفته شدند و ۵۶ سویه‌ی هلیکوباکتر نان‌پیلوری به عنوان مثبت کاذب در نظر گرفته شدند. به کمک پرایمر بلاست در سایت NCBI، متوجه شدیم که پرایمر A (پرایمر طراحی شده در این مطالعه) قادر به شناسایی تمام ۴۰ سویه‌ی استاندارد می‌باشد. بنابراین حساسیت این پرایمر در شناسایی هر ۴۰ سویه‌ی 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

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 $0.5 \times$ TBE 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 نیندد) 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 طراحی شده 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

پیلوری و سویه‌های آن باشد، برای شناسایی دقیق و زود هنگام ارگانسیم 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) اسـتـرین‌هـای ۱-۸۹۸، J99-۲۶۶۹۵ (Genbank) تا 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 (۱۵، ۱۸-۱۹). 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

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 ۱۰۰ درصد 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 هلیکوباکتر پیلوری 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

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 میکروبی‌شناسی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

روش‌های مولکولی که برای تأیید حضور DNA هلیکوباکتر پیلوری صورت می‌گیرد، بیشتر بر اساس PCR با پرایمرهای *glmM* است (۲۰-۲۳). در این مطالعه با توجه به این که کل ۲۰ نمونه‌ی هلیکوباکتر پیلوری 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.

References

- Kusters JG, van Vliet AHM, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19(3): 449-90.
- van Amsterdam K, van der Ende A. *Helicobacter pylori* HP1034 (*ylxH*) is required for motility. *Helicobacter* 2004; 9(5): 387-95.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Brunette GW. CDC health information for international travel 2012: The Yellow Book. New York, NY: Oxford University Press; 2011.
- 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 Gastrointest Liver Dis* 2010; 19(3): 311-7.
- 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. Faruqi 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.

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

Masoomeh Madhi¹, Sharareh Moghim PhD², Farkhondeh Pursina PhD³, Peyman Adibi MD⁴, Farzad Khademi¹, Ziba Farajzadegan MD⁵, Hajieh Ghasemian Safaei PhD⁶

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, Department of Bacteriology and Virology, School of Medicine, 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