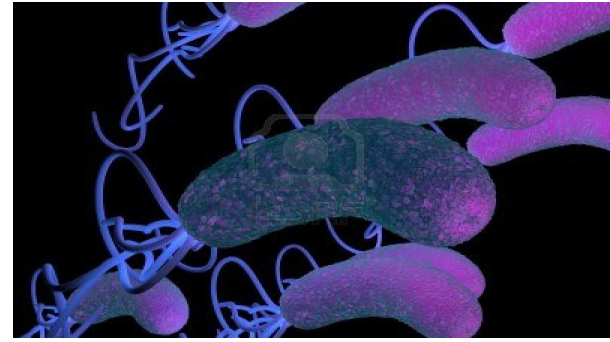


HELICO-BP PCR Test

D. Labella



INTRODUZIONE:

L'*Helicobacter Pylori* è un batterio gram-negativo che colonizza l'epitelio gastro-esofageo ed è responsabile della gastrite cronica nell'uomo, potendo essere coinvolto anche nella patogenesi dell'ulcera peptica e del tumore allo stomaco. Lo stabilimento e il mantenimento dell'infezione da H.Pylori dipende da fattori dell'ospite ma anche del batterio stesso, che secreta alcuni enzimi (come l'*ureasi*) per facilitare la sua sopravvivenza nell'ambiente acido dello stomaco.

Alcuni geni sono stati identificati che sono correlati ad un diverso grado di severità dell'infezione. Circa il 50-60% di ceppi sono portatori del *gene cagA (cytotoxin-associated gene)* e quindi producono una proteina di 128 kDa la cui espressione è fortemente *associata all'ulcerazione del duodeno, all'atrofia della mucosa gastrica e al tumore dello stomaco* (PNAS 1993, 90;5791-5795). Quindi, la presenza di *cagA* viene considerata un marcatore della virulenza del ceppo in esame.

Un altro fattore di virulenza è costituito da una citotossina che induce la formazione di vacuoli nelle cellule dell'ospite, portandole alla morte (Mol.Microbiol. 1990, 20;241-246). Si tratta del gene *vacA*, che è presente in tutti i ceppi di H.Pylori ma che viene *espresso in maniera differente a seconda della variante allelica presente*. La regione *N-terminale* può essere presente come *allele s1a, s1b o s2*. La *regione centrale* occorre come *allele m1 o m2* (J.Biol.Chem. 1995, 270;17771-17777). Questa struttura a mosaico è responsabile delle differenze nella produzione di citotossina tra i vari ceppi e dei differenti esiti clinici.

Sebbene i due geni della virulenza presi qui in esame (*cagA* e *vacA*) non siano in associazione tra di loro, *i ceppi positivi per cagA sono frequentemente vacA s1/m1 e i ceppi negativi per cagA sono frequentemente vacA s2/m2*.

Helico-BP PCR Test è un test di individuazione di H.Pylori e contemporaneamente di tipizzazione dei suoi fattori di virulenza che è valido sia su isolati di cultura sia su biopsie gastriche.

Principio del metodo:

Il test prevede l'amplificazione contemporanea (multiplex) del gene *ureC* (GenBank Accesion n°AE000529), del gene *cagA* (GenBank Accesion n° L11714) e successivamente sui campioni positivi la tipizzazione del gene *vacA* (GenBank Accesion n°U29401e n°U05676) mediante reazione di PCR e rivelazione in elettroforesi su gel di agarosio (J. Clin. Microbiol. 1998, 36(5);1271-1276). L'impiego inoltre di un controllo interno di amplificazione consente la corretta valutazione dei dati ottenuti.

Interpretazione dei Risultati:

I risultati ottenuti permettono una **valutazione completa** dell'eventuale infezione da **H.Pylori**.

Positività del segnale	Caratteristiche infezione
<i>ureC</i>	presenza del patogeno
<i>cagA</i>	elevata virulenza e patogenicità del ceppo
<i>vacA</i> s1/m1	alti livelli di tossina vacuolizzante
s1/m2	bassi o moderati livelli di tossina vacuolizzante
s2/m2	assenza di tossina
	Esito clinico
<i>vacA</i> s1a	Infiltrati di neutrofili e linfociti ulcera duodenale
<i>vacA</i> m1	Danno all'epitelio gastrico

Referenze Bibliografiche:

- 1) PNAS 1993, 90;5791-5795
- 2) Mol.Microbiol. 1990, 20;241-246
- 3) J.Biol.Chem. 1995, 270;17771-17777
- 4) J. Clin. Microbiol. 1998, 36(5);1271-1276
- 5) J. Clin. Microbiol. 1998, 36(9);2597-2603
- 6) J. Clin. Microbiol. 2004, 42(10);4512-4518
- 7) J. Clin. Microbiol. 2000, 38(10);3755-3758
- 8) J. Clin. Microbiol. 1997, 35(6);1620-1623