دانشگاه تهران
پردیس علوم
دانشکده زیست شناسی

موضوع:

طراحی یک مدل حیوانی به عنوان ابزار مناسب برای مطالعه استقرار *Helicobacter pylori* در معده

نگارش:

پرستو صنیعی

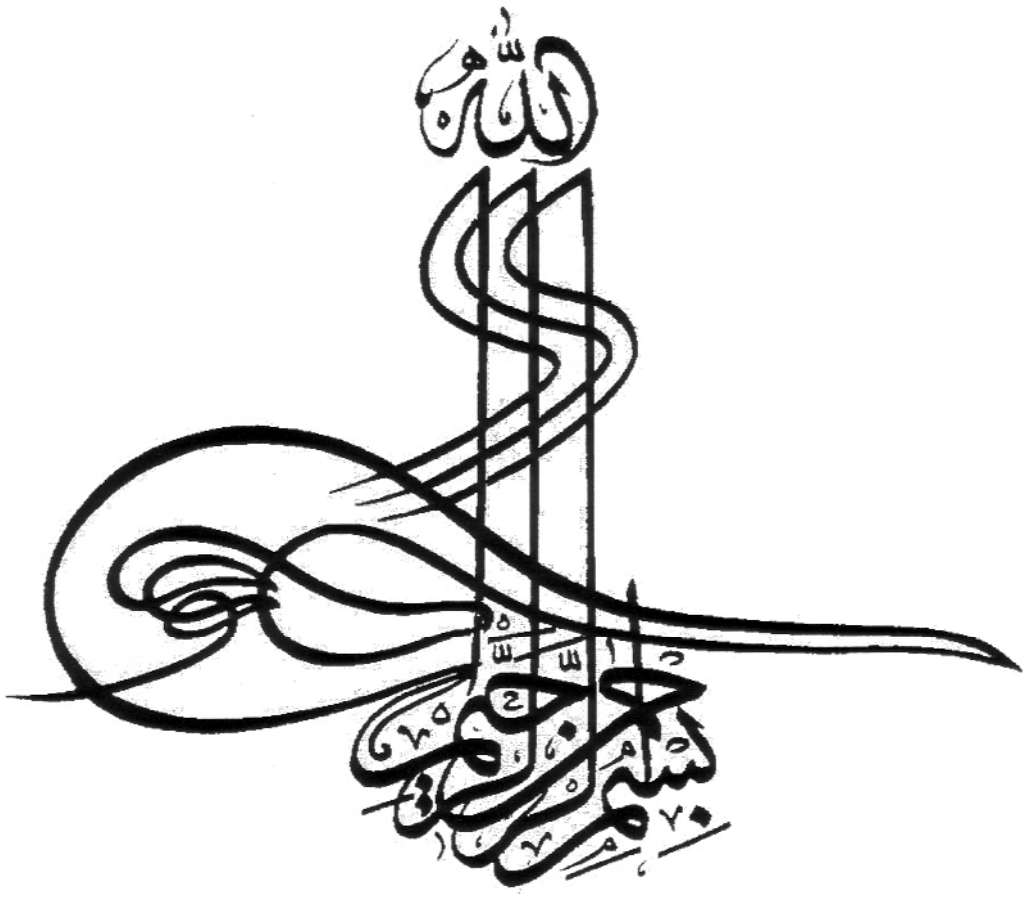
استاد راهنما:

سرکار خانم دکتر فریده سیاوشی

پایان نامه

جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی

مهر ۱۳۸۷


الله
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تهران
پردیس علوم
دانشکده زیست شناسی

موضوع:

طراحی یک مدل حیوانی به عنوان ابزار مناسب برای مطالعه استقرار *Helicobacter pylori* در معده

نگارش:

پرستو صنیعی

استاد راهنما:

سرکار خانم دکتر فریده سیاوشی

استاد مشاور:

جناب آقای دکتر صادق مسرت

پایان نامه

جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی

مهر ۱۳۸۷

تقدیم به:

همسر همیشه مهربان و صبورم

مهران

و

مادر دلسوز و فداکارم

تقدیر و تشکر:

با سپاس و تقدیر فراوان از استاد راهنمای عزیز و بزرگوار، سرکار خانم دکتر فریده سیاوشی که همواره مشوق من بودند و مرا از راهنماییهای ارزنده خود بهره مند ساختند.

با تشکر و قدردانی از استادمشاورم جناب آقای دکتر صادق مسرت که همواره همراه من بودند و از هیچ کمکی در انجام این تحقیق فروگذاری نکردند.

با تشکر و قدردانی از جناب آقای دکتر محمدرضا دهپور، جناب آقای دکتر علیرضا فرومدی و جناب آقای دکتر محمد علی آموزگار که قبول زحمت کردند و داوری این پایان نامه را به عهده گرفتند.

با تقدیر و سپاس از جناب آقای دکتر صراف نژاد، سرکار خانم دکتر کدیور و سرکار خانم شهرستانی که از ابتدای کار صبورانه پاسخگوی سوالات بیشمار من بودند و سهم بزرگی در انجام این تحقیق داشتند.

با تشکر فراوان و سپاس قلبی از دوستان و همراهان گرامیم سرکار خانم منصوره زمانی، سرکار خانم عاطفه توکلیان و جناب آقای سعید لطیفی نوید که در لحظه لحظه انجام این تحقیق همراه و همگام من بودند و پیمودن این راه را بر من هموار ساختند.

چکیده

مقدمه: *Helicobacter pylori* یک پاتوژن گوارشی انسان است که به طور اختصاصی در معده انسان کلنیزه می‌شود. یک مدل حیوانی جایگزین، برای بررسی برروی عملکرد باکتری و فرآیندهای ایمن‌سازی مؤثر علیه این میکرو ارگانیسم ضروری است. از طرف دیگر با توجه به اینکه مقاومت آنتی بیوتیکی مهمترین علت شکست در درمان عفونت *H.pylori* به شمار می‌رود، مدل‌های حیوانی در غربالگری داروهای جدید مؤثر بر علیه *H.pylori* نقش دارند. در این تحقیق، در مرحله اول، میزان شیوع مقاومت به آنتی بیوتیک‌های رایج بررسی شد و در مرحله دوم امکان کلنیزه شدن *H.pylori* در معده خوکچه هندی مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: مقاومت ۱۰۰ سویه *H.pylori* در رقتهای متوالی از مترونیدازول، کلاریترومایسین، فورازولیدون، آموکسی سیلین و تتراسیکلین با روش انتشار از دیسک بررسی گردید. مخلوطی از چهار سویه *H.pylori* جدا شده از بیماران مبتلا به زخم معده به پنج خوکچه هندی ماده خورانده شد. به حیوان کنترل تنها سرم فیزیولوژی خورانده شد. پس از دو هفته، کلنیزه شدن *H.pylori* در معده به وسیله PCR با پرایمر اختصاصی ژن 16S rDNA برروی نمونه مدفوع و رنگ‌آمیزی فلورسانس با آنتی بادی اختصاصی ارزیابی شد. نمونه‌گیری با فواصل چهار هفته به مدت شش ماه تکرار گردید. تست آنتی ژن مدفوعی در ماه ششم برروی پنج حیوان و تست بافت شناسی در ماه دوم و ششم برروی دو حیوان انجام شد.

نتایج: مقاومت به آموکسی سیلین، تتراسیکلین و فورازولیدون به ترتیب ۱۰٪، ۳۴٪ و ۸٪ به دست آمد. مقاومت به کلاریترومایسین در ۸٪ سویه‌ها دیده شد. مقاومت به مترونیدازول ۶۴٪ تخمین زده شد.

از تعداد شش عدد خوکچه هندی مورد بررسی، یک حیوان دو ماه پس از تایید کلنیزه شدن باکتری به روش PCR از بین رفت. نتایج هیستولوژی نشان دهنده گاستریت فعال و ارتشاح سلولهای لنفوسیت بالغ در معده حیوان مذکور بود.PCR با پرایمر اختصاصی ژن 16S rDNA *H.pylori*، رنگ آمیزی فلورسانس برروی نمونه مدفوع و تست آنتی ژن مدفوعی در همه حیوانات آلوده شده مثبت بود. در خوکچه هندی کنترل جواب همه تست‌ها منفی شد. برخلاف انتظار نتایج هیستولوژی برروی یکی از حیوانات در ماه ششم هیچگونه التهابی را نشان نداد.

بحث: نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مقاومت به مترونیدازول و تتراسیکلین در مقایسه با مطالعه قبل افزایش چشمگیری داشته است (۳۷٪ – ۷٪). مقاومت به این دو آنتی بیوتیک در مقایسه با گزارش دیگر کشورها در سطح نسبتاً بالایی قرار دارد. در نرخ مقاومت نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها تغییر فاحشی ایجاد نشده است.

معده خوکچه هندی خصوصیات مشترک زیادی با معده انسان دارد. نتایج مثبت این تحقیق نشان می‌دهد که خوکچه هندی احتمالاً می‌تواند مدل حیوانی مناسبی جهت مطالعه عفونت *H.pylori* و بررسی اثر داروهای جدید باشد. برای بررسی علت منفی شدن نتیجه هیستولوژی در مورد یکی از حیوانات لازم است این تست در مورد سایر حیوانات نیز انجام گیرد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول مقدمه ۲
۱-۱ تاریخچه ۲
۱-۲ خصوصیات فیلوژنی جنس *Helicobacter* ۳
۱-۳ خصوصیات مورفولوژی *H.pylori* ۳
۱-٤ خصوصیات بیوشیمیایی *H.pylori* ٤
۱-٥ نیازهای رشد *H.pylori* ٥
۱-٦ اپیدمیولوژی ٦
۱-۷ طبقه‌بندی جنس *Helicobacter* و مشخصات برخی از گونه‌های آن ٦
۱-۷-۱ گونه‌های *Helicobacter* معده‌ای ۷
۱-۷-۱-۱ *Helicobacter felis* ۷
۱-۷-۱-۲ *Helicobacter mustelae* ۸
۱-۷-۱-۳ *Helicobacter acinonychis* ۸
۱-۷-۱-٤ *Helicobacter heilmannii* ۹
۱-۷-۲ گونه‌های انتروهپاتیک *Helicobacter* ۱۰
۱-۸ سیر عفونت ناشی از *H.pylori* و بیماریهای ناشی از آن ۱۱
۱-۸-۱ گاستریت حاد ۱۲
۱-۸-۲ گاستریت مزمن ۱۳
۱-۸-۳ آتروفی ۱٥
۱-۸-٤ متاپلازیای روده‌ای ۱٦
۱-۸-٥ سرطان معده ۱٦
۱-۸-٦ لنفومای MALT ۱۷
۱-۸-۷ زخمهای پپتیک ۱۷
۱-۸-۸ برگشت اسید به مری(GERD) ۱۸

۱-۹ فاکتورهای ویرولانس *H.pylori* ۱۸
۱-۹-۱ cag PAI ۱۸
۱-۹-۲ سیتوتوکسین واکوئل زای Vac A ۲۰
۱-۹-۳ مقاومت به اسید ۲۱
۱-۹-٤ شکل و حرکت باکتری ۲۲
۱-۹-٥ اتصال به موسین ۲۲
۱-۹-٦ اتصال به سلولهای اپی تلیال ۲۳
۱-۱۰ درمان عفونت *H.pylori* ۲٤
۱-۱۱ آنتی‌بیوتیکها ۲٦
۱-۱۱-۱ اهمیت آنتی‌بیوتیکها ۲٦
۱-۱۱-۲ مکانیسم اثر آنتی‌بیوتیکها ۲٦
۱-۱۱-۳ مکانیسم‌های کلی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۲۷
۱-۱۲ آنتی‌بیوتیکهای مورد استفاده برای ریشه‌کنی *H.pylori* و راههای ایجاد مقاومت به آنها ۲۹
۱-۱۲-۱ نیتروایمیدازول‌ها ۲۹
۱-۱۲-۲ ماکرولیدها ۳۰
۱-۱۲-۳ پنی‌سیلین‌ها ۳۰
۱-۱۲-٤ تتراسیکلین‌ها ۳۱
۱-۱۲-٥ فلوروکینولونها - نیتروفورانها و ریفامایسین‌ها ۳۲
۱-۱۳ شیوع مقاومت ۳۳
۱-۱٤ روشهای سنجش حساسیت باکتریها به آنتی‌بیوتیکها ۳٤
۱-۱٥ روشهای تشخیص عفونت *H.pylori* ۳٦
۱-۱٥-۱ روشهای تهاجمی ۳٦
۱-۱٥-۱-۱ آندوسکوپی ۳۷
۱-۱٥-۱-۲ تست اوره‌آز سریع ۳۷
۱-۱٥-۱-۳ کشت ۳۸

۱-۱۵-۱-٤ بافت‌شناسی ۳۸
۱-۱۵-۱-۵ روشهای مولکولی ۳۹
۱-۱۵-۲ روش‌های غیرتهاجمی ٤۰
۱-۱۵-۲-۱ تست اوره تنفسی ٤۰
۱-۱۵-۲-۲ سرولوژی ٤۱
۱-۱۵-۲-۳ تست آنتی‌ژن مدفوعی ٤۲
۱-۱۵-۲-٤ روشهای ملکولی ٤۳
۱-۱٦ تشخیص ملکولی عفونت *H.pylori* با استفاده از PCR نمونه مدفوع ٤۳
۱-۱٦-۱ تیمار بیوشیمیایی ٤۳
۱-۱٦-۲ تیمار ایمونولوژیکی ٤٤
۱-۱٦-۳ روشهای فیزیکی ٤٤
۱-۱۷ مدل حیوانی ٤۵
۱-۱۷-۱ تاریخچه ٤۵
۱-۱۷-۲ خصوصیات یک مدل حیوانی ایده‌آل جهت مطالعات باکتریولوژی ٤٦
۱-۱۷-۳ اهمیت مدل حیوانی در مطالعات *H.pylori* ٤۷
۱-۱۷-٤ مدلهای حیوانی برای عفونت *H.pylori* ٤۸
۱-۱۷-٤-۱ موش ٤۸
۱-۱۷-٤-۲ جربیل ٤۹
۱-۱۷-٤-۳ خوک نوتوبیوتیک ۵۰
۱-۱۷-٤-٤ پریماتها ۵۱
۱-۱۷-٤-۵ خوکچه هندی ۵۱
فصل دوم مواد و روشها ۵۵
بخش اول: بررسی مقاومت *H.pylori* به آنتی‌بیوتیکهای مختلف به روش انتشار از دیسک ۵۵

۲-۱ نمونه‌گیری ۵۵
۲-۱-۱ محیط ترانسپورت ۵۵
۲-۲ کشت باکتری ۵۵
۲-۲-۱ محیط کشت انتخابی ۵۵
۲-۲-۱-۱ محلول ذخیره آنتی‌بیوتیک ۵۶
۲-۲-۲ محیط کشت معمولی ۵۶
۲-۲-۳ کشت بیوپسی ۵۷
۲-۲-٤ تهیه گسترش مستقیم از بیوپسی ۵۷
۲-۲-۵ شرایط گرمخانه برای رشد باکتری ۵۷
۲-۲-٦ نگه‌داری *H.pylori* به مدت طولانی ۵۷
۲-۲-٦-۱ محیط نگهداری ۵۸
۲-۳ آزمایشات تأییدی برای وجود *H.pylori* ۵۸
۲-۳-۱ رنگ‌آمیزی گرم ۵۸
۲-۳-۲ تست اوره‌آز غیرسریع ۵۸
۲-۳-۳ تست اکسیداز ۵۹
۲-۳-٤ تست کاتالاز ۵۹
۲-٤ بررسی مقاومت *H.pylori* به آنتی‌بیوتیکها ۵۹
۲-٤-۱ آنتی‌بیوتیکهای مورد استفاده ۵۹
۲-٤-۲ آماده‌سازی باکتری جهت تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک ٦۰
۲-٤-۳ مراحل تست حساسیت به آنتی‌بیوتیک با روش انتشار ازدیسک ٦۰
۲-٤-۳-۱ تهیه سوسپانسیون ٦۰
۲-٤-۳-۲ تلقیح سوسپانسیون باکتری به محیط کشت ٦۱
۲-٤-۳-۳ بررسی هاله‌های ممانعت رشد ٦۱
۲-٤-۳-٤ آنالیز داده ها ٦۱
بخش دوم: ایجاد مدل حیوانی *H.pylori* ٦۲
۲-۵ حیوانات ٦۲

۲-۵-۱ نگهداری حیوانات ٦۲
۲-٦ باکتریها ٦۳
۲-٦-۱ تأیید هویت باکتریها ٦۳
۲-٦-۱-۱ استخراج DNA ژنومی از باکتریها ٦۳
۲-٦-۱-۲ بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده ٦۵
۲-٦-۱-۲-۱ بررسی DNA استخراج شده با اسپکتوفتومتر ٦۵
۲-٦-۱-۲-۲ بررسی DNA استخراج شده روی ژل آگارز ٦٦
۲-٦-۲ انتخاب پرایمر ٦۷
۲-٦-۳ بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ٦۸
۲-۷ تأیید عدم آلودگی طبیعی خوکچه‌های هندی به *H.pylori* ۷۰
۲-۷-۱ نمونه‌گیری از حیوانات ۷۰
۲-۷-۲ استخراج DNA از نمونه مدفوع ۷۰
۲-۷-۳ بررسی DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۷۲
۲-۷-٤ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۷۲
۲-۸ ایجاد عفونت در حیوانات ۷۲
۲-۸-۱ تهیه سوسپانسیون باکتری ۷۲
۲-۸-۲ تلقیح سوسپانسیون به حیوانات ۷۲
۲-۹ بررسی کلنیزه شدن *H.pylori* در معده خوکچه هندی ۷۳
۲-۹-۱ شناسایی *H.pylori* در نمونه مدفوع به روش PCR ۷۳
۲-۹-۲ شناسایی *H.pylori* در نمونه مدفوع به وسیله رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (IFA) ۷٤
۲-۹-۲-۱ آنتی‌بادیها ۷٤
۲-۹-۲-۲ بهینه‌سازی رنگ‌آمیزی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم ۷٤
۲-۹-۳ شناسایی *H.pylori* در مدفوع به وسیله تست آنتی‌ژن مدفوعی ۷٦
۲-۹-٤ تست بافت شناسی ۷۸
فصل سوم نتایج ۸۱

۳-۱ بررسی پلیتهای کشت بیوپسی ۸۱
۳-۲ بررسی گسترش مستقیم بیوپسی ۸۱
۳-۳ شناسایی *H.pylori* ۸۲
۳-٤ نتایج آنتی بیوگرام ۸۳
۳-٥ نتایج آنتی بیوگرام به تفکیک ، جنس، عارضه، سن ۸۷
۳-٦ بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از *H.pylori* ۹۷
۳-۷ نتایج PCR ژن *H.pylori* 16S rDNA ۹۸
۳-۸- بررسی کیفیت DNA استخراج شده از مدفوع حیوانات پیش از ایجاد عفونت ۹۹
۳-۹ نتایج PCR ژن *H.pylori* 16S rDNA برروی مدفوع حیوانات پیش از ایجاد عفونت.. ۹۹
۳-۱۰ بررسی کیفیت DNA استخراج شده از مدفوع حیوانات پس از ایجاد عفونت ۱۰۰
۳-۱۱ نتایج PCR ژن *H.pylori* 16S rDNA برروی مدفوع حیوانات بعد از ایجاد عفونت ۱۰۰
۳-۱۲ بررسی اسلایدهای ایمونوفلورسانس غیرمستقیم ۱۰۱
۳-۱۳ نتایج بدست آمده از تست آنتی ژن مدفوعی ۱۰٤
۳-۱٤ نتایج بدست آمده از تست بافت شناسی ۱۰٥
فصل چهارم بحث ۱۰۹
فصل پنجم منابع ۱۲۱
واژه‌نامه ۱٤۰

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- آنتی‌بیوتیک‌ها برای بررسی مقاومت *H. pylori* ٦٠
جدول ۲-۲- غلظتهای متفاوت اجزای واکنش PCR که برای بهینه سازی مورد استفاده قرار گرفتند..... ٦٩
جدول ۲-۳- حجم مواد مورد استفاده برای PCR با استفاده از DNA *H.pylori*..... ٦٩
جدول ۲-٤- برنامه PCR برای تکثیر ژن 16S rDNA *H.pylori*..... ۷۰
جدول ۲-٥ آزمایشات انجام شده جهت بررسی کلنیزه شدن *H.pylori* در معده خوکچه‌هندی ۷۳
جدول ۲-٦ رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین..... ۷۹
جدول ۳-۱- میزان مقاومت به آنتی بیوتیک‌ها در *H.pylori*..... ۸۷
جدول ۳-۲- نتایج اندازه‌گیری کمی DNAها با روش اسپکتوفتومتری ۹۷
جدول ۳-۳- نتیجه ELISA برای تشخیص آنتی ژنهای مربوط به *H.pylori*..... ۱۰٤
جدول ٤-۱- میزان مقاومت به مترونیدازول در ایران در مقایسه با برخی کشورها..... ۱۱۲

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ تصویر میکروسکوپ الکترونی از فرم مارپیچی و کوکوئید *H. Pylori*..... ٤

شکل ۱-۲- مراحل کلیدی سیر عفونت *H.pylori*..... ۱۲

شکل ۱-۳- موقعیت سلول‌های پریتال در معده ۱٤

شکل ۱-٤- عملکردهای سیتوتوکسین واکوئل‌زای VacA در سلولهای اپی‌تلیال..... ۲۰

شکل ۱-٥- مکانیزهای کلی مقاومت در باکتری‌ها..... ۲۸

شکل ۲-۱- طریقه مقید کردن خوکچه هندی..... ٦۲

شکل ۳-۱- کلنی‌های ریز، براق و صاف *H.pylori* با قطر حداکثر ۱mm برروی محیط انتخابی..... ۸۱

شکل ۳-۲- رنگ‌آمیزی گرم گسترش مستقیم بیوپسی ۸۱

شکل ۳-۳- اشکال مارپیچی *H.pylori* جدا شده از بیوپسی‌های معده..... ۸۲

شکل۳-٤- ماکزیمم قطر هاله ها در رقتهای مختلف آنتی بیوتیکها..... ۸۳

شکل ۳-٥- مقایسه میزان مقاومت به مترونیدازول در رقتهای مختلف..... ۸٤

شکل ۳-٦- مقایسه میزان مقاومت به کلاریترومایسین در رقتهای مختلف ۸٤

شکل ۳-۷- مقایسه میزان مقاومت به فورازولیدون در رقتهای مختلف ۸٥

شکل ۳-۸- میزان مقاومت به آموکسی سیلین در رقت $۱ \frac{\mu g}{ml}$ ۸٥

شکل ۳-۹- میزان مقاومت به تتراسیکیلین در رقت $۰/٥ \frac{\mu g}{ml}$..... ۸٦

شکل ۳-۱۰- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به مترونیدازول به تفکیک جنس..... ۸۸

شکل ۳-۱۱- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به کلاریترومایسین به تفکیک جنس ۸۸

شکل ۳-۱۲- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به فورازولیدن به تفکیک جنس..... ۸۹

شکل ۳-۱۳- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به آموکسی سیلین به تفکیک جنس ۸۹

شکل ۳-۱٤- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به تتراسیکلین به تفکیک جنس ۹۰

شکل ۳-۱٥- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به مترونیدازول به تفکیک عارضه..... ۹۱

شکل ۳-۱۶- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به کلاریترو مایسین به تفکیک عارضه ۹۱
شکل ۳-۱۷- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به فورازولیدون به تفکیک عارضه..... ۹۲
شکل ۳-۱۸- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به آموکسی سیلین به تفکیک عارضه..... ۹۲
شکل ۳-۱۹- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به تتراسیکلین به تفکیک عارضه..... ۹۳
شکل ۳-۲۰- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به مترونیدازول به تفکیک سن ۹٤
شکل ۳-۲۱- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به کلاریترومایسین به تفکیک سن..... ۹٤
شکل ۳-۲۲- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به فورازولیدون به تفکیک سن..... ۹۵
شکل ۳-۲۳- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به آموکسی سیلین به تفکیک سن ۹۵
شکل ۳-۲٤- مقایسه میزان مقاومت و حساسیت به تتراسیکلین به تفکیک سن..... ۹٦
شکل ۳-۲۵- مقاومت چند دارویی در سویه‌های *H.pylori*..... ۹۷
شکل ۳-۲٦- الکتروفورز DNA استخراج شده از چهار سویه *H.pylori*..... ۹۸
شکل ۳-۲۷- الکتروفورز محصولات PCR ژن 16S rDNA برای چهار سویه *H.pylori*..۹۸
شکل ۳-۲۸- الکتروفوز DNA استخراج شده از مدفوع حیوانات پیش از ایجاد عفونت ۹۹
شکل ۳-۲۹- الکتروفورز محصولات PCR ژن 16S rDNA برروی مدفوع حیوانات پیش از ایجاد عفونت. ۹۹
شکل ۳-۳۰- الکتروفورز DNA استخراج شده از مدفوع حیوانات پس از ایجاد عفونت ۱۰۰
شکل ۳-۳۱- الکتروفورز محصولات PCR ژن 16S rDNA برروی مدفوع حیوانات پس از ایجاد عفونت ۱۰۱
شکل ۳-۳۲- نتیجه رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم برای *H.pylori*..... ۱۰۲
شکل ۳-۳۳- نتیجه رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم برای بافر PBS به عنوان کنترل‌منفی ۱۰۲
شکل ۳-۳٤- نتیجه رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم برروی نمونه مدفوع..... ۱۰۳
شکل ۳-۳۵- نتیجه رنگ آمیزی ایمونوفلورسانس غیرمستقیم مدفوع حیوان آلوده نشده... ۱۰۳
شکل ۳-۳٦ - مقادیر جذب خوانده شده در طول موج ٤۵۰/٦۳۰nm برای نمونه‌های مدفوع حیوانات ۱۰۵

شکل ۳-۳۷- رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین اپی تلیوم معده خوکچه هندی دو ماه پس از ایجاد عفونت. ۱۰۶
شکل۳-۳۸ رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین اپی تلیوم طبیعی معده خوکچه هندی. ۱۰۶
شکل ۳-۳۹- رنگ آمیزی گیمسای بافت اپی تلیوم معده خوکچه هندی برای تشخیص *H.pylori* ۱۰۷
شکل ۳-٤۰- رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین اپی تلیوم معده خوکچه هندی شش ماه پس از ایجاد عفونت. ۱۰۷

University of Tehran
University College of Science

School of Biology

Subject:

Experimental design of an animal model as tool for studying *Helicobacter pylori* colonization in stomach

By:
Parastoo Saniee

Under supervision of:
Dr. F. Siavoshi

A thesis submitted to the Graduate Studies Office in Partial Fulfillment of the requirements for the degree of M.Sc. in Microbiology

October 2008

University of Tehran
University College of Science

School of Biology

Subject:

Experimental design of an animal model as tool for studying *Helicobacter pylori* colonization in stomach

By:
Parastoo Saniee

Under supervision of:
Dr. F. Siavoshi

A thesis submitted to the Graduate Studies Office in Partial Fulfillment of the requirements for the degree of M.Sc. in Microbiology

October 2008

فصل اول

مقدمه