ORIGINAL ARTICLE

Molecular Detection of Bacterial Etiology of Rheumatoid Arthritis

Seyyed Reza Hashemi[1],
Ramezan Ali Ataee[2],
Gholam Hossein Alishiri[3]
Mahdi Ghorbanalizadegan[4],
Mostafa Mahabadi[4],
Ali Najafi[5]

[1] MSc Student in Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Hospital Research Development Committee, Applied Microbiology Research Center, System Biology, Poisoning Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Rheumatology, Faculty of Medicine, Hospital Research Development Committee, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Applied Microbiology Research Center, System Biology, Poisoning Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[5] Assistant Professor, Applied Microbiology Research Center, System Biology, Poisoning Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received October 3, 2018 ; Accepted February 4, 2018)

Abstract

Background and purpose: Etiology of rheumatoid arthritis is not fully recognized. The purpose of this study was to use universal and specific primers to trace bacteria in the blood and synovial fluid in patients with rheumatoid arthritis.

Materials and methods: In this experimental study, a PCR method was developed to identify a wide range of bacteria in general and *Staphylococcus aureus* in specific. Ninety five synovial fluid and 100 blood samples being stored at -80°C were assayed. Genome extraction was performed. Universal primer pairs were used for amplification of 16SrRNA and a specific primer was used for *nuc* gene *of Staphylococcus aureus*. Then, the PCR product of the specific primer was sequenced and data were analyzed.

Results: The samples of synovial fluid and blood samples of rheumatoid arthritis patients which were negative in bacteriological culture showed 33 (34%) and 36 (36%) cases to be positive for 16Sr RNA, respectively. Also, 21 cases of synovial fluid and only 1 blood sample were positive for *Staphylococcus aureus*.

Conclusion: The results showed the presence of 16SrRNA gene of different bacteria, including *Staphylococcus aureus* in blood and synovial fluid of patients. Based on current findings, it is likely to explain a part of the etiology of rheumatoid arthritis, thereby modifying some treatment protocols.

Keywords: rheumatoid arthritis, synovial fluid, blood, PCR

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (173): 33-39 (Persian).

* **Corresponding Author: Ramezan Ali Ataee -** Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran (E-mail: ataee216@gmail.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-29]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره ۱۷۳ خرداد سال ۱۳۹۸ (۳۹-۳۳)

تشخیص مولکولی اتیولوژی باکتریایی بیماری آرتریت روماتوئید

سیدرضا هاشمی[۱]
رمضانعلی عطایی[۲]
غلامحسین علیشیری[۳]
مهدی قربانعلی زادگان[۴]
مصطفی مهابادی[۴]
علی نجفی[۵]

چکیده

سابقه و هدف: علل اتیولوژیک آرتریت روماتوئید بخوبی شناخته نشده است. هدف از این مطالعه کاربرد پرایمرهای عمومی و اختصاصی جهت ردیابی وجود باکتری‌ها در خون و مایع مفصل بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، روش PCR برای شناسایی طیف وسیعی از باکتری‌ها به طور عمومی و *استافیلوکوک آرئوس* به صورت اختصاصی طراحی شد. ۹۵ نمونه مایع مفصلی و ۱۰۰ نمونه خون که در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شده بودند، بررسی شدند. استخراج ژنوم انجام شد. از پرایمر عمومی برای تکثیر ژن 16SrRNA و از پرایمر اختصاصی برای تکثیر ژن *nuc استافیلوکوکوس اورئوس* استفاده شد. سپس محصول پرایمر اختصاصی تعیین توالی شد و نتایج به دست آمده ضمن بررسی‌های مقایسه‌ای به صورت توصیفی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد، از ۹۵ نمونه مایع مفصل و ۱۰۰ نمونه خون که در کشت باکتریولوژیک منفی گزارش شده بودند، به ترتیب ۳۳ مورد (۳۴ درصد) و ۳۶ مورد (۳۶ درصد درصد) وجود ژن عمومی 16Sr RNA ردیابی شدند. همچنین، به ترتیب در ۲۱ مورد از نمونه‌های مایع مفصل و ۱ مورد از نمونه‌های خون بیماران سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* مشاهده شد.

استنتاج: نتایج این مطالعه حاکی از وجود ژن 16SrRNA باکتری‌های مختلف از جمله *استافیلوکوکوس آرئوس* در مایع مفصل و خون بیماران بود. با استناد به این نتایج احتمالاً بتوان بخش قابل توجهی از اتیولوژی بیماری آرتریت روماتوئید را توضیح داد و بر مبنای آن پروتکل درمانی را اصلاح نمود.

واژه های کلیدی: آرتریت روماتوئید، مایع مفصل، خون و PCR

مقدمه

عفونت‌های میکروبی در ایجاد آرتریت روماتوئید (RA) نقش دارند(۱)، چنان‌که ارتباط عفونت *B. coli* و آرتریت روماتوئید دربرخی مطالعات گزارش شده است(۲). عدم تشخیص دقیق بیماری آرتریت روماتوئید منجر به آن شد که در طی دو دهه نتوان به این سوال که آیا آرتریت روماتوئید یک بیماری با منشاء عفونی است، پاسخ صحیحی‌ارائه داد(۴،۳). برخی برعفونی بودن آرتریت روماتوئید اصرار ورزیدند(۵). برخی نیز نقش عفونت

مولف مسئول: رمضانعلی عطایی- تهران: میدان ونک، خیابان ملاصدرا، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله E-mail: ataee216@gmail.com
۱. دانشجوی کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
۲. استاد، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، کمیته توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان، مرکز تحقیقات میکروب شناسی کاربردی، سیستم بیولوژی، انستیتوی سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
۳. استاد، گروه روماتولوژی، دانشکده پزشکی، کمیته توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
۴. استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات میکروب شناسی کاربردی، سیستم بیولوژی، انستیتوی سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
۵. استادیار، مرکز تحقیقات میکروب شناسی کاربردی، سیستم بیولوژی، انستیتوی سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله(عج)، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۷/۱۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۷/۲۳ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۱۱/۱۵

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-29]

استافیلوکوکوس اورئوس را در پاتوژنز آرتریت روماتوئید مطرح کردند(۶). همچنین، عفونت‌های پریکاردیت، امپی‌میا و پریودنتال به غیر از سپتی‌سمی منجر به مرگ؛ در ایجاد آرتریت روماتوئید نقش دارند(۹-۷). نقش عفونت‌های ویروسی نیز در آرتریت روماتوئید مطرح شده است(۱۰).

در مطالعه‌ای ویروس *EBV* در مایع مفصل بیماران روماتوئیدی ردیابی شد(۱۱). همچنین، رابطه بین *مایکوپلاسماها* و آرتریت روماتوئید گزارش شده است(۱۲). برخی مطالعات نیز وجود ژن‌های اختصاصی *مایکوپلاسما آرتریتیس*، *مایکوپلاسما پنومونیه* و *مایکوپلاسما هومینیس* در مایع مفصل بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید را گزارش کرده‌اند(۱۴،۱۳). با این حال، شواهدی از پاسخ‌های غیرطبیعی ایمنی ذاتی و اکتسابی مؤثر در پاتوژنز بیماری آرتریت روماتوئید ناشی از عوامل ژنتیکی و فاکتورهای محیطی نشان داده شده است(۱۶،۱۵). از آن‌جاکه بیماری آرتریت روماتوئید یک پدیده التهابی است و سوپرآنتی‌ژن‌های باکتریایی نیز مهم ترین عوامل التهاب زا معرفی شده‌اند؛ مطالعات متعددی به منظور نشان دادن وجود سوپرآنتی‌ژن‌های شایع *استافیلوکوکوس اورئوس* در مایع مفصل و خون بیماران آرتریت روماتوئیدی انجام شده است(۱۷). همچنین، وجود ژن‌های رمزکننده سوپرآنتی‌ژن‌های A(۱۸)، C(۲۰،۱۹)، D (۲۱)، و E (۲۲) استافیلوکوکی در خون و مایع مفصل بیماران نشان داده شده است. ولی منشاء تولید این سوپرآنتی‌ژن‌ها در مایع مفصل و خون نامشخص است و سوالات بی‌پاسخ فراوان در این رابطه وجود دارد. به عنوان مثال مشخص نیست که چرا کشت روتین باکترولوژیک مایع مفصل در محیط‌های کشت غنی شده منفی گزارش شده است؟

به تازگی، Viable But Non-Culturable(VBNC) state مطرح شده است که یک حالت فیزیولوژیکی ویژه است و زمانی ایجاد می‌شود که باکتری در شرایط محیطی توام با استرس قرار بگیرد؛ در این شرایط باکتری قادر به رشد در محیط‌های کشت مرسوم نبوده اما فعالیت خود را حفظ می‌کند(۲۳). با توجه به نقش عمده سوپرآنتی‌ژن‌های باکتریایی به‌ویژه *استافیلوکوکوس اورئوس* در ایجاد آرتریت روماتوئید و نیز زنده بودن و غیرقابل رشد بودن آن با ابزار رایج باکتری شناسی، طراحی‌های جدید اجتناب ناپذیر است. ممکن است بتوان با استفاده از ژن 16SrRNA وجود ارگانیسم‌های غیر قابل کشت ولی تولید کننده این سوپرآنتی‌ژن‌ها را در خون و مایع مفصل بیماران آرتریت روماتوئیدی نشان داد. هدف از این مطالعه کاربرد پرایمر عمومی برای تکثیر ژن 16SrRNA باکتری‌هاست و پرایمر اختصاصی تکثیرکننده *استافیلوکوکوس اورئوس* VBNC بوده است.

مواد و روش ها

این مطالعه که از نوع آزمایشگاهی بود، برای ردیابی باکتری‌های زنده ولی غیر قابل رشد (Viable but Not Culturable= VBNC) طراحی شد. ۹۵ نمونه مایع مفصل و ۱۰۰ نمونه خون بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید که همگی از نظر کشت باکتریولوژیک منفی(۲۲،۱۹) و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه داری شده بودند، بررسی شدند. در بدو نمونه‌گیری از مایع مفصل و خون، همگی از نظر کشت باکتریولوژیک در آزمایشگاه بیمارستان بقیه‌الله(عج) بررسی شدند و نتایج کشت باکتریولوژیک منفی بود. این درحالی بود که قبل از نمونه گیری هیچ یک از بیماران مصرف آنتی بیوتیک نداشته و بستری هم نبودند. بنابراین، بعد از سه سال نگه داری نمونه‌ها در فریزر منهای ۸۰ درجه سانتیگراد، استخراج ژنومی با کیت (Cinna Pure DNA; Cat No: PR881614) انجام شد.

راه اندازی روش PCR

در این مطالعه؛ یک زوج پرایمر عمومی جهت تشخیص ژن 16S rRNA(۲۴) با ترادف: U1.16S-S: AGAG TTTGATCMTGGCTCAG و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-29]

U2.16S-AS: AAGGAGGTGWTCCARCC استفاده شد. هم‌چنین یک جفت پرایمر برای تشخیص اختصاصی سویه‌های مختلف *استافیلوکوکوس* براساس ژن بانک NR_118997.2 طراحی شد. ترادف پرایمر طراحی شده عبارت بود از: FNUC.S: ATGGACGTGGCTTAGCGTAT و RNUC.S: GCGTTGTCTTCGCTCCAAAT که پس از بررسی‌های بیوانفورماتیکی، با واسطه شرکت پیشگام سفارش ساخت داده شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA از نمونه‌های خون و نیز مایع مفصل، طبق دستورالعمل کیت انجام شد و با استفاده از نانودراپ غلظت وخلوص DNA استخراج شده در طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد.

واکنش PCR

به منظور راه اندازی واکنش PCR، یک میکرولیتر از ژنوم استخراج شده هر یک از نمونه‌ها؛ ۱۰ میکرولیتر Master Mix (ساخت Ampliqon دانمارک)، یک میکرولیتر (۱۰ پیکومول) از هریک از پرایمرها را وارد میکروتیوپ ۰/۲ میکرولیتری نموده و با آب مقطر استریل حجم نهایی به ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. دستگاه ترموسایکلر با شیب دمایی بهینه و واکنش انجام شد. سپس محصول PCR با ژل آگارز ۱/۵ درصد در کنار 100bp DNA ladder با ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۴۰ دقیقه الکتروفورز شد وبا دستگاه ژل داک مشاهده شد و تصویربرداری انجام شد. محصول PCR توسط شرکت ایرانی سینا کلون تعیین توالی شد. با مقایسه نتاج و آنالیز بیوانفورماتیکی محصول PCR تکثیر ژن16s rRNA مربوط به طیف گسترده‌ای از باکتری‌ها مشخص شد.

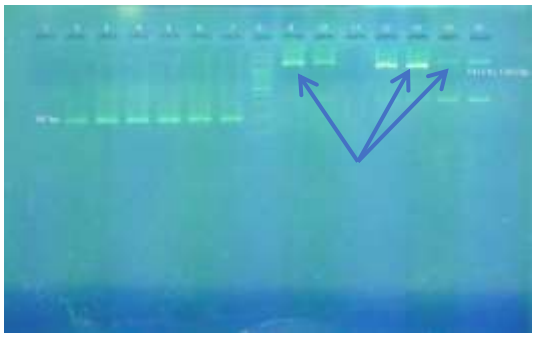
یافته ها و بحث

نتایج ارزیابی DNA استخراج شده حاکی از آن بود که در نمونه‌های مایع مفصل و خون به طور متوسط ۱۵۰ نانوگرم و ۷۰ نانوگرم DNA در هر میکرولیتر حاصل شده است.

نتایج بررسی‌های بیوانفورماتیکی نشان داد زوج پرایمر عمومی طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی را شناسایی می‌نماید (جدول شماره ۱). پرایمر عمومی ژن 16SrRNA با طول غیر یکسان؛ یعنی، از ۱۴۱۵ تا ۱۵۶۵ جفت باز در باکتری های مختلف تکثیر نمود و پرایمر اختصاصی یک قطعه ۱۸۱ جفت بازی را تکثیر کرده بود (تصویر شماره ۱).

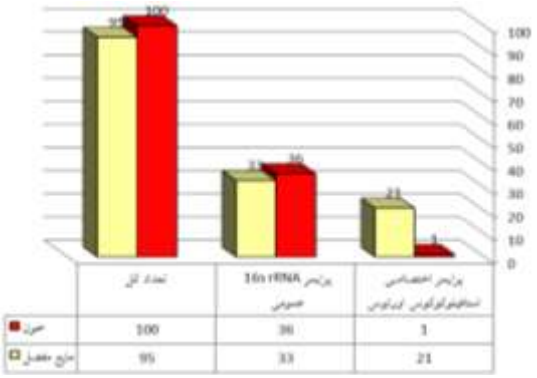
نتیجه راه‌اندازی PCR با شیب دمایی ۵۰ تا ۵۶ درجه سانتیگراد انجام شد و دمای بهینه ۵۳ درجه سانتیگراد به دست آمد. همچنین، دمای بهینه برای فعالیت پرایمر تکثیرکننده ژن *استافیلوکوکوس آرئوس* ۵۸ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. نتایج حاصل از پرایمر عمومی و اختصاصی در نمودار شماره ۱ ارایه شده است.

در این مطالعه، با بهره گیری از تکثیر ژن 16S rRNA و طراحی PCR و تعیین سکانس، نمونه‌های مایع مفصل و خون بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید بررسی شد. یافته حائز اهمیت در این مطالعه این بود که، قطعات حاصل از PCR ژن اختصاصی و مقایسه آن با اطلاعات موجود در بانک داده ها همخوانی ۱۰۰ درصدی نشان داد. همچنین همسان سازی پرایمر عمومی در NCBI وجود باکتری‌های مختلف از جمله باکتری‌های غیر قابل کشت را مشخص نمود که خلاصه‌ای از آن در جدول شماره ۱ ارایه شده است.



تصویر شماره ۱: نمونه ای از الکتروفورز محصول PCR پرایمرهای عمومی و اختصاصی استفاده شده در این مطالعه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-29]



تصویر شماره ۲: نتایج بررسی مولکولی ۹۵ نمونه مایع مفصل و ۱۰۰ نمونه خون با پرایمرهای فوق نشان داده شده است

جدول شماره ۱: بلاست پرایمر عمومی مورد استفاده طیف وسیعی از قطعات ژن 16SrRNA باکتری‌های مختلف را تکثیرنموده است

Length	Sequence (5'->3')	
۲۰	Forward primer: AGAGTTTGATCATGGCTCAG	
۱۷	Reverse primer: AAGGAGGTGTTCCAACC	
product length	Organisms	Gene Bank
۱۵۴۴	Uncultured Staphylococcus sp. clone WCFC10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JX852649.1
۱۵۴۵	Uncultured Staphylococcus sp. clone AGCH3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KT175984.1
۱۵۴۴	Macrococcus canis strain KM 45013 16S ribosomal RNA, partial sequence	NR_156154.1
۱۵۴۴	Staphylococcus aureus strain AR465 chromosome, complete genome	CP029082.1

نتایج حاصل از پرایمر عمومی علیه ژن 16S rRNA با تکثیر قطعات مختلفی همراه بود و تعیین گونه باکتری را امکان پذیر نمود. مطالعات منتشر شده زیادی نیز با این نتایج همخوانی دارند(۲۴). همچنین، کاربرد ژن 16S rRNA جهت تشخیص عفونت‌های باکتریایی سخت رشد (fastidious) در بیماران دارای پروتزهای مفاصل نشان داده شده است(۲۵). بنابراین، استفاده از ژن 16S rRNA نقش مهمی در تعیین اتیولوژی برخی بیماری‌ها نشان داده است.

در مطالعه دیگری، با استفاده از پرایمرهای تکثیرکننده ژن 16S rRNA و بررسی ۱۵۰۰ نمونه خون بیماران مختلف، از ۱۳۰۹ مورد کشت منفی ۳۶۰ مورد (۲۷/۵ درصد) وجود باکتری‌های مختلف را نشان داد(۲۶).

در مطالعه حاضر از بررسی ۱۰۰ نمونه خون بیمار آرتریت روماتوئید کشت منفی ۳۶ مورد (۳۶ درصد) حضور ژنوم 16S rRNA و تنها در یک مورد (۱ درصد) پرایمر اختصاصی *استافیلوکوکوس اورئوس* را نشان داد. همچنین، با بررسی ۹۵ نمونه مایع مفصل کشت منفی ۳۳ مورد (۳۴ درصد) حضور 16S rRNA باکتری‌های مختلف با بیشترین فراوانی سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (۲۳/۱۵ درصد) نشان داده شد. علت این اختلاف فاحش؛ یعنی ۲۳/۱۵ در برابر ۱ درصد برای پرایمر اختصاصی تکثیرکننده ژن *nuc* *استافیلوکوکوس اورئوس* در مطالعه حاضر مشخص نیست، در حالی که در مطالعه قبلی روی همین نمونه‌ها در ۳۳ درصد موارد وجود ژن انتروتوکسین C نشان داده شده بود(۲۰). شاید، علت این اختلاف ناشی از وجود آنزیم‌های موجود در خون و یا وجود سایر باکتری‌ها باشد. معلوم نیست که آیا این ژن از باکتری تبدیل شده به فرم VBNC بوده و یا تشابه ساختمانی بین این ژن و سایر ژن‌ها باشد، ولی از آن‌جا که طول قطعه تکثیر شده برای ژن 16S rRNA حدود ۱۵۰۰ جفت باز بوده، احتمال تشابه تقویت می شود.

این مطالعه توانست در بیش از ۳۰ درصد موارد وجود ژن 16S rRNA را که معرف وجود باکتری است، نشان دهد و نیز نقش احتمالی عفونت نهفته باکتریایی را در این بیماران مشخص نماید. افزون براین، بررسی وجود سوپرآنتی‌ژن‌های مختلف در نمونه‌های فوق در مطالعات قبلی گزارش شده بود(۱۹). نتیجه این مطالعه ممکن است بتواند راهنمای مناسبی برای منشاء تولید سوپر آنتی‌ژن‌های گزارش شده باشد و حداقل بتواند بخشی از اتیولوژی بیماری آرتریت روماتوئید را مطرح نماید ولی هنوز این سوال باقی است که چرا باکتری‌های دخیل در ایجاد بیماری درمحیط‌های کشت باکتریولوژیک رشد نکرده‌اند و نتیجه مقایسه و یکسان سازی ژن تکثیر شده در PCR، باکتری‌های غیر قابل کشت را نشان داده است، این امر نیاز به بررسی بیش‌تر را نشان می‌دهد.

در هرحال، بهره‌گیری از 16S rRNA جهت تشخیص اتیولوژی بیماری‌هایی که در تشخیص‌های روتین با چالش مواجه هستند، مستلزم استفاده از تجهیزات اتوماتیک تعیین سکانس می‌باشد. در حقیقت، توسعه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-29]

تجهیزات تشخیص مولکولی به همراه دستگاه تعیین سکانس از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است(۲۷) و ممکن است بتواند ضمن بالابردن دقت و صحت تشخیص‌های آزمایشگاهی، کاهش هزینه‌ها را به دنبال داشته باشد(۲۸).

سپاسگزاری

از راهنمایی‌ها و مشاوره ارزشمند واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان بقیه‌الله(عج) در انجام این پروژه تشکر و قدردانی می‌شود. هیچ تضاد منافعی بین نویسندگان وجود ندارد.

References

1. Watson-Williams P. Rhumatoid Artritis De To Infection of the Nasal Accessory Sinus. Br Med J 1922; 1(3186): 88-89.
2. Slot G, Deville PM. Association of B. coli Infection and Rheumatoid Arthritis. BMJ 1936; 1(3935): 155-156.
3. Steinberg MD. Observations on the possible etiologic relationship between fungus infection of the human foot and rheumatoid arthritis. J Nati Associat Chiropod 1956; 46(9): 589-592.
4. Ford DK. Rheumatoid arthritis--an infection? Arthritis Rheum 1963; 6:159-165.
5. Morton RS. Is Rhematoid Artritis An Infection? BMJ 1965; 1(5435): 607.
6. Hill AG. The role of infection in the causation of rheumatoid arthritis. Proc R Soc Med 1968; 61(10): 971-972.
7. Wojcik T, Berkan E, Jozefczyk Z, Stanowska E. Role of staphylococcal infection in rheumatoid arthritis in children and adolescents. Pediatr Pol 1977; 52(1): 59-64.
8. Ward JR, Atchson SG. Infection in rheumatoid arthritis. Comprehensive Therapy 1976; 2(10): 46-52.
9. Shimizu K, Toyota Y, Koh T, Ishikawa M, Hirose Y. A case of rheumatoid arthritis caused by focal infection from periodontal tissue (author's transl). Josai Shika Daigaku kiyo. The Bulletin of the Josai Dental University 1977; (6): 421-424.
10. Faure GC, Bene MC. Rheumatoid arthritis with T cell subsets suggesting chronic viral infection. J Rheumatol 1988; 15(10): 1590-1591.
11. Mahabadi M, Faghihiloo E, Alishiri GH, Ataee MH, Ataee RA. Detection of Epstein-Barr virus in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. Electronic Physician. 2016; 8(3): 2181-2186. (Persian)
12. Hoffman RW, O'Sullivan FX, Schafermeyer KR, Moore TL, Roussell D, Watson-McKown R, et al. Mycoplasma infection and rheumatoid arthritis: analysis of their relationship using immunoblotting and an ultrasensitive polymerase chain reaction detection method. Arthritis Rheum 1997; 40(7): 1219-1228.
13. Ataee RA, Golmohammadi R, Alishiri GH, Mirnejad R, Najafi A, Esmaeili D, et al. Simultaneous Detection of Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma hominis and Mycoplasma arthritidis in Synovial Fluid of Patients with Rheumatoid Arthritis by Multiplex PCR. Arch Iran Med 2015; 18(6): 345-350 (Persian).
14. Golmohammadi R, Ataee RA, Alishiri GH, Mirnejad R, Mehrabi Tavana A, Esmaieli D. Design of PCR-based method for detection of a gene-encoding Mycoplasma arthritidis mitogen superantigen in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. Iran J Microb 2014; 6(6): 415-420 (Persian).
15. Bellucci E, Terenzi R, La Paglia G, Gentileschi S, Tripoli A, Tani C, et al. One

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-29]

year in review 2016: pathogenesis of rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 2016; 34(5): 793-801.

16. Zhang X, Zhang D, Jia H, Feng Q, Wang D, Liang D, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. Nat Med 2015; 21(8): 895-905.
17. Ataee RA, Mohoseni-Moghadam Z, Salimzadeh A, Latifi AM, Ataee MH, Alishiri GH. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of staphylococcal enterotoxins in synovial fluid of rheumatoid arthritis pateints. Journal of Pure and Applied Microbiology 2013; 7(2): 1113-1119.
18. Ataee RA, Kahani MS, Alishiri GH, Ahamadi Z. Staphylococcal Enterotoxin A Detection from Rheumatoid Arthritis Patients' Blood and Synovial Fluid. Electronic Physician 2016; 8(2):1850-1856.
19. Ataee MH, Alishiri GH, Esmaeili D, Eidei A, Ataee RA. Study of three pair primers PCR to detect SEC gene in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients and comparison with Elisa. Journal of Pure and Applied Microbiology 2014; 8(1): 125-132.
20. Ataee RA, Ataee MH, Alishiri GH, Esmaeili D. Staphylococcal enterotoxin C in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. Iran Red Cres Med J 2014; 16(10): 1-6 (Persian).
21. Ataee RA, Kashefi R, Alishiri GH, Esmaieli D. Staphylococcus aureus enterotoxin D: Absence of bacteria but presence of its toxin. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(12): e28395 (Persian).
22. Zahiri Yeganeh S, Ataee RA, Alishiri GH, Movahedi M. Bacteriological and molecular assessment of staphylococcal enterotoxin e in the blood of patients with rheumatoid arthritis. Jundishapur J Microbiol 2015; 8(2): e16621 (Persian).
23. Zhao X, Zhong J, Wei C, Lin C-W, Ding T. Current Perspectives on Viable but Non-culturable State in Foodborne Pathogens. Front Microbiol 2017; 8: 580.
24. Watts G, Youens Clark K, Slepian M, Wolk D, Oshiro M, Metzger G, et al. 16S rRNA gene sequencing on a benchtop sequencer: accuracy for identification of clinically important bacteria. J Appl Microbiol 2017; 123(6):1584-1596.
25. Emery DC, Shoemark DK, Batstone TE, Waterfall CM, Coghill JA, Cerajewska TL, et al. 16S rRNA Next Generation Sequencing Analysis Shows Bacteria in Alzheimer's Post-Mortem Brain. Front Aging Neurosci 2017; 9: 195.
26. Teng F, Felix KM, Bradley CP, Naskar D, Ma H, Raslan WA, et al. The impact of age and gut microbiota on Th17 and Tfh cells in K/BxN autoimmune arthritis. Arthritis Res Ther 2017; 19(1): 188.
27. Chen R, Wang Z, Chen J, Qiao GX. Avoidance and Potential Remedy Solutions of Chimeras in Reconstructing the Phylogeny of Aphids Using the 16S rRNA Gene of Buchnera: A Case in Lachninae (Hemiptera). Int J Mol Sci 2015; 16(9): 20152-20167.
28. Saeb ATM. Current Bioinformatics resources in combating infectious diseases. Bioinformation 2018; 14(1): 31-35.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-03-29]