

بررسی فراوانی ژن CagA در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به اختلالات دستگاه گوارش فوقانی در ایران

دکتر محمدرضا بوجاری^{۱*}، دکتر مهدی فروزنده^۲، امیرھوشنگ الوندی^۳، دکتر سید مرتضی هاشمی^۴، فرامرز مسجدیان^۵، دکتر احمد نظیفی^۴

^۱استادیار، گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

^۲استاد، گروه بیوتکنولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

^۳پژوهشگر، گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز

^۴استادیار، بخش داخلی، مجتمع آموزشی و پژوهشی و درمانی حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی ایران

^۵پژوهشگر، گروه میکروبی‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

خلاصه

مقدمه

عفونت با هلیکوباکتر پیلوری عموماً با التهاب معده همراه است؛ اما تنها در برخی مواقع منجر به ایجاد بیماری‌های دارای اهمیت بالینی مانند زخم دوازدهه و زخم معده می‌شود. توسعه بیماری به بیماری‌زایی سویه هلیکوباکتر پیلوری عفونی‌کننده فرد، حساسیت میزبان و عوامل کمکی محیطی بستگی دارد. پروتئین وابسته به سیتوتوکسین (cytotoxin associated gene protein) که توسط ژن cagA کد می‌شود، عامل بیماری‌زایی مهمی است که تنها توسط دسته‌ای از سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری کد می‌شود و در بعضی از جمعیتها به صورت مارکر بیماری‌زایی سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری استفاده شده است.

هدف از این مطالعه، بررسی شیوع ژن cagA در میان سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به بیماری‌های دستگاه گوارش فوقانی و بررسی ارتباط حضور این ژن و شدت بیماری در بیماران ایرانی است.

مواد و روشها

در این تحقیق از ۱۸۰ بیمار، نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم معده گرفته شد. پس از جداسازی سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری از نمونه بیوپسی بیماران، DNA باکتری به روش استاندارد استخراج گردید و حضور ژن cagA با استفاده از روش PCR مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

از مجموع ۱۸۰ بیمار ۹۲ سویه هلیکوباکتر پیلوری جدا شد و توسط واکنشهای بیوشیمیایی تعیین هویت گردید. ۷۰٪ سویه‌ها دارای ژن cagA بودند. تمام ۱۹ بیمار با زخم دوازدهه و عفونت هلیکوباکتر (۱۰۰٪) در حالی که ۲۴ بیمار از ۷۲ بیمار با سوءهاضمه و عفونت هلیکوباکتر (۶۱٪) cagA مثبت داشتند ($p < 0.01$).

نتیجه‌گیری

تفاوت معنادار بین فراوانی ژن cagA می‌تواند نشان دهنده افزایش خطر ابتلا به زخمهای گوارشی در افراد عفونی با سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری دارای این ژن باشد. گوارش، ۱۳۸۳؛ سال نهم: ۸۰-۱۷۶

واژه‌های کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، زخم گوارشی، cagA

مقدمه

عفونت با *Helicobacter pylori* گسترده‌ترین عفونت انسانی

*نویسنده مسئول: دکتر محمدرضا بوجاری - تهران، بزرگراه همت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، ساختمان علوم پایه،

گروه میکروبی‌شناسی

تلفن: ۸۸۰۵۸۶۴۹؛ شماره: ۸۸۰۵۸۷۱۹

E-mail: bojarymr@hotmail.com

است^(۱)، به طوری که در حدود ۳۰٪ از جمعیت اروپای غربی و آمریکا و بیش از ۸۰٪ جمعیت کشورهای در حال توسعه رادبر می‌گیرد. اگرچه این باکتری مسبب بیماری زخمهای گوارشی و عامل خطر مهمی برای ابتلا به آدنوکارسینوم و لنفوم معده است^(۲)، اما تنها طیف محدودی از افراد عفونی شده با آن به بیماری مبتلا می‌شوند^(۳،۴). به بیان دیگر ارتباط *H. pylori* و انسان ممکن است شامل هر یک از حالت‌های اکولوژیک شامل همسفرگی، همزیستی و انگلی

کوچک بود. در میان ۱۸۰ بیمار مورد مطالعه، ۲۴ بیمار مبتلا به زخمهای گوارشی، ۱۲ بیمار مبتلا به دئودنیت و ۱۴۴ بیمار مبتلا به سوءهاضمه بدون زخم بودند. از هر بیمار دو نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم معده گرفته شد. یکی از نمونه‌های بیوپسی در آزمایش اوره‌آز سریع به کار رفت و نتایج آن تا چهار ساعت پس از آزمایش، پیگیری و یادداشت شد^(۱۷). نمونه دیگر جهت کشت به وسیله محیط انتقالی^(۱۸)، در دمای ۴۰°C به آزمایشگاه منتقل شد.

جداسازی اولیه *H. pylori*: نمونه‌های بیوپسی منتقل شده به آزمایشگاه در مدت زمانی کمتر از ۶ ساعت پس از نمونه‌گیری کشت شد. نمونه بیوپسی روی دو محیط کشت اختصاصی^(۱۹) به صورت خطی کشت داده شد. از محیط‌های بروسلا آگار غنی شده با ۷٪ خون گوسفند (جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران) و ۱٪ Egg yolk agar (BBL, Cokeysville, USA) و محیط کلمبیا آگار (Oxoid, UK) غنی شده با ۱۰٪ زرده تخم مرغ و ۱٪ Iso Vitalx (BBL) استفاده شد. هر دو محیط با اضافه کردن ۵ mg/L آمفوتریسین B (Sigma, Germany)، ۶ mg/L وانکومایسین (Sigma) و ۵ mg/L تری متوپریم (Sigma) انتخابی گردید. پس از کشت، پلیت‌ها در دمای ۳۷°C، شرایط میکرواثر فیلیک (۵٪ O₂، ۱۰٪ CO₂ و ۸۵٪ N₂)، و رطوبت بالا (۱۰۰٪) به مدت ۳ تا ۷ روز گرمخانه‌گذاری شدند. *H. pylori* بر اساس شکل کلنی، رنگ آمیزی گرم و واکنش‌های مثبت کاتالاز، اکسیداز و اوره‌آز آگار کریستنس تعین هویت شد. عدم رشد در طی ۷ روز منفی تلقی گردید. باکتریها از سطح پلیت به کمک سواب استریل جمع‌آوری و در محیط نگهدارنده، در دمای ۸۰°C- نگهداری شد^(۱۷).

جداسازی DNA: پس از تهیه کشت تازه سه روزه از *H. pylori* به روش استاندارد استخراج گردید و DNA در 10mM Tris-HCl با pH=8 در دمای ۲۰°C- نگهداری شد^(۲۰).

PCR: در حجم ۲۰μL حاوی 1X buffer P40, 50mM KCl, Tris-HCl 10mM 200mM dNTPmix (همگی 1U, DNAPolymerase 0/8Taq, Nonidet (Fermentas, Lithuania) و 20mM از آغازگرهای R, F انجام شد. فرآیند PCR با دمای اتصال پرایمر ۵۸ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس محصول واکنش در ژل آغازگر ۱٪ در کنار مارکر وزن مولکولی (Fermentas) Generuler 1kb Ladder طبق روش استاندارد بررسی گردید^(۲۰).

آغازگرها: برای بررسی حضور ژن *cagA* در سویه‌های *H. pylori* جدا شده از بیماران به وسیله روش PCR از آغازگر gtc tac tgg tgg

باشد^(۵). پیشنهاد شده است که تنوع سویه‌ها در ایجاد بیماریهای مختلف توسط این ارگانیزم دخالت دارد^(۶). یکی از مهمترین تفاوتها بین سویه‌های *H. pylori*، حضور یا عدم حضور *cagA* cytotoxin associated gene protein (cagA) است^(۷). نشانه‌ای برای مجموعه‌ای از ژنها به نام *cagPAI* (cag Pathogenicity Island) است که در مجموع باعث ایجاد التهاب در معده می‌شوند^(۹،۱۰). اهمیت این مجموعه ژنی، زمانی بیشتر مشخص می‌شود که بدانیم محققین معتقدند باکتریهای همزیست (کومنسال) غیر بیماریزا با کسب یک ویژگی ژنتیکی از طریق یک انتقال افقی به باکتریهای بیماریزا تبدیل می‌شوند. با توجه به خصوصیات *cagPAI* از قبیل محتوای سیتوزین و گوانین متفاوت از ژنوم *H. pylori* (به ترتیب ۳۵ و ۳۹ درصد)، *H. pylori* این مجموعه ژنی را در طی تکامل کسب کرده است^(۱۱). البته پراکندگی سویه‌ها با توجه به محل جغرافیایی آن متفاوت است؛ به طوری که تقریباً همه سویه‌های جدا شده در شرق آسیا دارای ژن *cagA* می‌باشند و فراوانی آن در بیماریهای زخم گوارشی و التهاب معده تقریباً برابر است^(۱۲،۱۳) ولی در کشورهای غربی، یک سوم تا دو سوم سویه‌های جدا شده از بیماران دارای ژن *cagA* می‌باشند و بیماریهای زخم گوارشی و سرطان معده در افراد عفونی شده با این سویه‌ها بسیار شایعتر است^(۱۴،۱۵). با توجه به تفاوت در بیماریزایی سویه‌های *H. pylori*، میکروبیولوژیست‌ها سعی می‌کنند در جمعیت‌های مختلف مارکرهایی را بیابند که بر مبنای آن، پیش‌بینی عواقب عفونت با *H. pylori* میسر شود^(۱۶).

هدف از این مطالعه بررسی شیوع ژن *cagA* در میان سویه‌های *H. pylori* جدا شده از بیماران مبتلا به ناراحتیهای ناحیه فوقانی دستگاه گوارش و ارتباط حضور این ژن و شدت بیماری در بیماران ایرانی است.

مواد و روشها

در این مطالعه مقطعی، بیماران مبتلا به ناراحتیهای دستگاه گوارش فوقانی، مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی مجتمع آموزشی، پژوهشی و درمانی حضرت رسول اکرم (ص) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران، در طول خرداد ماه تا دی ماه سال ۱۳۸۲ مورد بررسی قرار گرفتند. بیماران توسط پزشک متخصص آندوسکوپی شدند و تشخیص بیماری بر پایه نمای آندوسکوپی معده انجام گرفت. اطلاعات مربوط به بیماران نیز به وسیله پرسشنامه به دست آمد. معیارهای حذف بیماران از بررسی، تاریخچه جراحی معده، بدخیمی و خونریزی فعال در معده و ابتدای روده

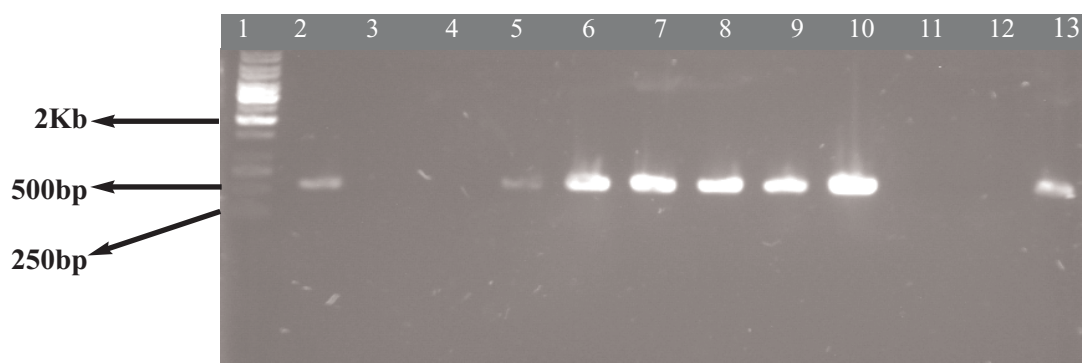
دکتر بوجاری و همکاران

آندوسکوپی، ۹۲ نفر (۵۱٪) با هلیکوباکتر پیلوری عفونی بودند. اما تنها ۷۹ (۴۴٪) بیمار از مجموع ۱۸۰ نفر دارای تست اوره آز مثبت بودند. سویه‌های جدا شده از بیماران از نظر حضور ژن *cagA* به وسیله روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند. این آغازگر باعث تولید محصولی با ۵۶۱ جفت باز می‌شود (شکل ۱). جمعیت بیماران عفونی با *H. pylori* شامل ۴۹ بیمار مونث (۵۳٪) و ۴۳ بیمار مذکر (۴۷٪) بود. میانگین سنی بیماران ۴۷ سال و دامنه سنی از ۱۷ تا ۸۰ سال بود. نسبت جداسازی *H. pylori* در بیماران مبتلا به زخم گوارشی ۸۰٪ (۱۹ نمونه از ۲۴ بیمار)، دئودنیت ۸٪ (یک نمونه از ۱۲ بیمار) و سوءهاضمه ۵۰٪ (۷۲ مورد از ۱۴۴ بیمار) بود. فراوانی ژن *cagA* در ۹۲ سویه جدا شده از بیماران، ۷۰٪ (۶۴ مورد از ۹۲ بیمار) بود. فراوانی این ژن در سویه‌های جدا شده از بیماران مبتلا به زخم گوارشی ۱۰۰٪، دئودنیت ۱۰۰٪ و سوءهاضمه بدون زخم ۶۱٪ بود (جدول ۱).

cagA-IrR: cgt tgt gag cct gtg agt tg و *cagA-IrF*: tgg agg استفاده شد. این آغازگرها با استفاده از نرم افزار OLIGO5 و توالی ژن *cagA* از سویه 60190 (ATCC 49503) موجود در Genbank با شماره AB015415 طراحی شدند. علاوه بر این، برای تشخیص با ثبات ترین نقاط ژن، توالی مورد نظر با توالی چندین سویه دیگر (توالی ژن *cagA* سویه‌های، ATCC 43526 با شماره Genbank، AB003397 و ATCC 53726 با شماره Genbank، L11714) مقایسه شد.

نتایج

هر بیمار که یکی از آزمایش‌های اوره آز یا کشت آن مثبت بود، عفونی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب از مجموع ۱۸۰ بیمار مراجعه‌کننده به



شکل ۱: محصول PCR، آغازگر *cagA-Ir*، الکتروفورز شده در آگارز یک درصد. چاهک شماره ۱ مارکروزن ملکولی ۱Kb، چاهک شماره ۲ شاهد مثبت، چاهک شماره ۳ شاهد منفی، چاهک‌های شماره ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۳ و ۱۴ نمونه‌های *cagA* مثبت و چاهک‌های شماره ۴، ۱۱ و ۱۳ نمونه‌های منفی *cagA*.

جدول ۱: میزان جداسازی سویه‌های *H. pylori* و حضور ژن *cagA* در سویه‌های جدا شده از بیماران مبتلا به بیماریهای دستگاه گوارش فوقانی به تفکیک بیماری

بیماری	تعداد بیمار	نمونه <i>H. pylori</i> کشت مثبت (%)		فراوانی <i>cagA</i> (%)	
		اوره آز مثبت (%)	نمونه <i>H. pylori</i> کشت مثبت (%)	منفی	مثبت
زخم گوارشی	۲۴	۱۶ (۶۷)	۱۹ (۸۰)	-	۱۹ (۱۰۰)
دئودنیت	۱۲	۱ (۸)	۱ (۸)	-	۱ (۱۰۰)
سوءهاضمه بدون زخم	۱۴۴	۶۲ (۴۳)	۷۲ (۵۰)	۲۸ (۳۹)	۴۴ (۶۱)
مجموع	۱۸۰	۷۹ (۴۴)	۹۲ (۵۱)	۲۸ (۳۰)	۶۴ (۷۰)

بحث

انتشار جغرافیایی ژنوتیپ‌های مختلف هلیکوباکتر پیلوری بین شرق آسیا و کشورهای اروپایی متفاوت است (۱۵-۱۲). بررسی‌های اپیدمیولوژیک در ایران به دلیل قرار گرفتن در محل ارتباطی این

تجزیه و تحلیل آماری

در پایان، یافته‌ها به کمک آزمون Mann-Whitney U نرم افزار SPSS 9 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. عدد p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان پاسخ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

ژنتیکی میزبان- که در مجموع آن را خطر ابتلا می‌نامیم- به خصوصیات *cagPAI* نیز بستگی دارد. بدین معنی که *cagPAI* دارای پلی‌مورفیسم است و در مواردی حضور ژن *cagA* نشان دهنده حضور سایر ژنهای این مجموعه نخواهد بود^(۲۸) و امکان حذف ژنهای بالادست ژن *cagA* وجود دارد. حذف این دسته از ژنهای باعث کاهش بیماری‌زایی سویه می‌شود^(۲۹). از سوی دیگر، تنوع در ناحیه ۳' ژن *cagA*، باعث تغییر فسفریلاسیون آن و تغییر بیماری‌زایی سویه می‌گردد^(۶). در مجموع بر اساس این تحقیق، به نظر می‌رسد که در ایران احتمال ابتلا به بیماری زخم گوارشی در افراد حامل‌کننده سویه *cagA* مثبت بیشتر از افراد عفونی با سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری *cagA* منفی است.

تشکر و سپاس

بدین وسیله از آقایان مسعود آل‌بویه و توحید کاظمی که در مراحل مختلف انجام این تحقیق با ما همکاری داشتند، کمال تشکر به عمل می‌آید. مراحل ملکولی این تحقیق در مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شد، که در اینجا از مقام محترم ریاست و کلیه کارکنان این مرکز قدردانی می‌شود.

کشورها دارای اهمیت فراوانی است. مطالعات داخلی انجام شده بر روی ژن *cagA* نتایج ضد و نقیضی به همراه داشته است^(۲۴-۲۱)، به طوری که در بعضی موارد اختلاف، فراوانی این ژن در سویه‌های جدا شده از بیماران به ۵۰٪ می‌رسد. یکی از دلایل احتمالی این تناقض، حساسیت متفاوت آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعات است. زیرا هر چند ژن *cagA* تا حدود زیادی با ثبات است، اما ثبات ناحیه اتصال آغازگر نیز دارای اهمیت است^(۲۴،۲۵). به همین دلیل در این تحقیق از آغازگر طراحی شده از نواحی با ثبات ژن *cagA* استفاده شد. در بعضی مناطق، به ویژه در کشورهای غربی، ارتباط حضور این ژن و شدت بیماری مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری از لحاظ اپیدمیولوژیک دارای اهمیت است. این در حالی است که گزارشها از شرق آسیا بر شیوع بالای ژن *cagA*، بدون ارتباط با شدت بیماری دلالت دارند^(۲۶). هر چند شیوع بالای این ژن احتمالاً یکی از دلایل شیوع بالای سرطان معده در این کشورها می‌باشد^(۲۷). در این تحقیق فراوانی ژن *cagA* در بیماران مبتلا به زخم گوارشی به طور معنی‌داری بالاتر از بیماران مبتلا به سوءهاضمه بود ($p = 0.001$) و متفاوت باشد. این تفاوت، علاوه بر عوامل محیطی و خصوصیات

مراجع

- Blaser MJ. Ecology of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *J Clin Invest* 1997; **100**: 759-69.
- Atherton JC *et al.* The clinical relevance of strain type of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1999; **40**: 701-703.
- Karlin S. Detecting anomalous gene clusters and pathogenicity island in diverse bacterial genomes. *Trends in Microbiol* 2001; **9**: 335-43.
- Ashour AAR, Magalhaes PP, Mendes EN *et al.* Distribution of *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. *FEMS Immun Med Microbiol* 2002; **33**: 173-78.
- Balser MJ, Atherton JC *Helicobacter pylori*: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; **113**: 321-33.
- Azuma T, Yamakawa A, Yamazaki S *et al.* Distinct diversity of *cag* pathogenicity island among *H. pylori* strain in Japan. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 2508-17.
- Xiang Z, Censini S, Bayeli PF *et al.* Analysis of Expression of *CagA* and *VacA* virulence Factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that *CagA* is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. *Infect Immun* 1995; **63**: 94-8.
- Yamaoka Y, Osato MS, Sepulveda AR *et al.* Molecular epidemiology of *Helicobacter pylori* from east Asian and non-Asian countries". *Epidemiol Infect* 2000; **124**: 91-96.
- van Dooren LJ, Figueiredo C, Sanna R, *et al.* Distinct variants of *Helicobacter pylori cagA* are associated with *vacA* subtypes. *J Clin Microbiol* 1999; **37**: 2306-11.
- Censini S, Lang C, Xiang Z *et al.* *cagA* pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-Specific and disease associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci* 1996; **93**: 14648-53.
- Hacker J, and Kaper JB. The Concept of Pathogenicity Islands. In: Kaper JB, Hacker J, editors. Pathogenicity Island and other Mobile Virulence Elements. Washington D.C., ASM press; 1999. p: 1-11.
- Pan ZJ, Berg DE, van de Hulst RW *et al.* Prevalence of vacuolating cytotoxin production and distribution of distinct *vacA* alleles in *H. pylori* from China. *J Infect Dis* 2004; **178**: 220-226.
- Park SM, Park J, Kim JG *et al.* Relevance of *vacA* genotypes of *H. pylori* to *cagA* status and its clinical outcome. *Korean J Intern Med* 2001; **16**: 8-13.
- Ito Y, Azuma T, Ito S *et al.* Analysis and typing of the *vacA* gene from *cagA*-positive strain of *H. pylori* isolated in Japan. *J Clin Microbiol* 1997; **35**: 1710-14.
- Pan ZJ, van der Hulst WM, Tytgat GNJ *et al.* Relation between *vacA* subtypes, cytotoxin activity, and disease in *H. pylori*-infected patients from the Netherlands. *Am J Gastroenterol* 1999; **94**: 1517-1521.
- Blaser MJ. Not all *Helicobacter pylori* strains are created equal :should all be eliminated ?. *Lancet* 1997; **349**: 1020-2.
- Carnaha AM, Andrews G. *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, and *Campylobacter* species. In: Mahno CR, Manuselis G,

- editors. Textbook of Diagnostic Microbiology. 2nd ed. Saunders; Philadelphia, Pennsylvania, 2000. p: 515-37.
18. Han SW, Flamm R, Hachem CY *et al.* Transport and storage of *Helicobacter pylori* from Gastric mucosal Biopsies and clinical Isolates. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; **14**: 349-52.
 19. Piccolomini R, Di Bonaventure G, Festi D *et al.* Optimal combination of media for primary isolation of *Helicobacter pylori* from gastric biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 1997; **35**: 1541-4.
 20. Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: a Laboratory manual. 3rd ed. New York; CSHL press; 2001. Chapter 8.
۲۱. صفاری محمود، متولی محمدعلی، فاضلی علی. بررسی سوبه‌های *cagA+* و *vacA+* در بیماران مبتلا به عفونت با هلیکوباکتر پیلوری در بیمارستان شهید بهشتی کاشان در سال ۸۰-۷۹. خلاصه مقالات پنجمین کنگره سراسری میکروبیشناسی، ۶-۱۸۵.
 ۲۲. بازرگانی عبدالله، صابریور فاطمه، کمالی سروستانی اسکندر و همکاران. بررسی حضور ژنهای *cagA* و *vacA* و *iceA* در سوش‌های *Helicobacter pylori* جدا شده از بیماران فوقانی گوارشی. خلاصه مقالات ششمین کنگره سراسری میکروبیشناسی، ۱۲۸۲.
 ۲۳. بازرگانی عبدالله، اکرامی علیرضا. بررسی حضور ژن *cagA* در هلیکوباکتر پیلوری و ارتباط آن با شکل بالینی بیماری با روش PCR. خلاصه مقالات پنجمین کنگره میکروبیشناسی، صفحه ۱۸۲.
 ۲۴. محمدی مرجان، مهاجرانی نازنین، عقلائی اکبر و همکاران. تشخیص وجود هلیکوباکتر پیلوری و شاخصهای بیماریزایی آن از طریق واکنش زنجیره پلیمرز (PCR). گوارش، ۱۳۷۹؛ سال پنجم: ۶-۳.
 25. Yamoaka Y, Kodama T, Kashima K *et al.* Variants of the 3' region of the *cagA* gene in *H. pylori* isolates from patients with different *H. pylori*-associated diseases. *J Clin Microbiol* 1998; **36**: 2258-63.
 26. Covacci A, Telford JL, Guidance GD *et al.* *H. pylori* virulence and genetic geography. *Science* 1999; **248**: 1328-33.
 27. Saribas KH, Salih BA, Yamaoka Y *et al.* Analysis of *H. pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 1648-51.
 28. Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T *et al.* Structure of *cag* pathogenicity island in Japanese *H. pylori* isolates. *Gut* 1999; **44**: 336-41.
 29. Xiang Z, Censini S, Bayeli PF *et al.* Analysis of expression of *CagA* and *VacA* factors in 43 strains of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 1995; **63**: 94-8.

Bojary MR
Department of
Microbiology, Iran University
of Medical Sciences

Foroozandeh M
Department of
Biotechnology, Tarbiat
Modarres University

Alvandi AH
Department of
Microbiology, Iran University
of Medical Sciences

Hashemi SM
Hazrat Rasoul Akram
Medical Complex, Iran
University of Medical
Sciences

Masjedian F
Department of
Microbiology, Iran University
of Medical Sciences

Nazifi A
Hazrat Rasoul Akram
Medical Complex, Iran
University of Medical
Sciences

Corresponding Author:
Mohamad Reza Bojary Ph.D,
Department of Microbiology,
Faculty of Medicine, Iran
University of Medical Sciences,
Hemmat highway, Tehran, Iran.
Tel: +98 21 88058649
Fax: +98 21 88058719
E-mail:
bojarymr@hotmail.com

Study of the CagA Gene Prevalence in *Helicobacter Pylori* Strains Isolated from Patients with Upper Gastrointestinal Disorders in Iran

ABSTRACT

Introduction and Aims: *Helicobacter pylori* commonly is associated with gastritis: but only sometimes it causes clinically significant diseases such as gastric and duodenal ulcer.

The development of disease depends on the virulence of the infecting *H. pylori* strain, the susceptibility of the host, and environment co-factors. The cytotoxin associated protein encoded by *cagA* gene is an important virulence factor that is produced by some *H. pylori* strains, and has been used as virulence marker in some populations.

The aim of the study was to examine the prevalence of *cagA* gene in the isolated strains of *H. pylori* from patients with dyspeptic disease and to investigate the association of *cagA* gene and the severity of *H. pylori* related diseases in Iran.

Materials and Methods: In this study, biopsy specimens were obtained from the antrum of 180 patients. After isolation of *H. pylori* and its DNA by standard methods, polymerase chain reaction (PCR) technique was used for detection of *cagA* bacterial gene.

Results: 92 out of the 180 patients had *H. pylori* strains. 70% were *cagA* gene positive. All patients with peptic ulcer (100%) and 44 out of 72 (61%) patients with non-ulcer dyspepsia were *cagA* positive ($p < 0.01$).

Conclusions: There was significant difference in frequency of *cagA* gene in peptic ulcer disease and non-ulcer dyspepsia ($p < 0.01$). It showed that the risk of PUD in patients with *cagA*⁺ *H. pylori* infection may be higher than in those with *cagA*- *H. pylori* infection. *Govaresht* 2004; 9: 176-80

Keywords: *Helicobacter pylori*, PUD, CagA