گوارش، ۱۳۸۳؛ سال نهم: ۸۰-۱۷۶

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

دکتر محمدرضا بوجاری[1]*، دکتر مهدی فروزنده[2]، امیرهوشنگ الوندی[3]، دکتر سید مرتضی هاشمی[4]، فرامرز مسجدیان[5]، دکتر احمد نظیفی[4]

[1]استادیار، گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

[2]استاد، گروه بیوتکنولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

[3]پژوهشگر، گروه میکروب‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی اهواز

[4]استادیار، بخش داخلی، مجتمع آموزشی، پژوهشی و درمانی حضرت رسول اکرم (ص)، دانشگاه علوم پزشکی ایران

[5]پژوهشگر، گروه میکروب‌شناسی، 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 به‌صورت 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 دوازدهه‌و 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 است[1]، به‌طوری که در حدود ۳۰٪ از جمعیت اروپای غربی و آمریکا و بیش از ۸۰٪ جمعیت کشورهای در حال توسعه را دربر می‌گیرد. اگرچه این باکتری مسبب بیماری زخمهای گوارشی و عامل خطر مهمی برای ابتلا به آدنوکارسینوم و لنفوم معده است[2]، اما تنها طیف محدودی از افراد عفونی شده با آن به بیماری مبتلا می‌شوند[3,4]. به بیان دیگر ارتباط *H. pylori* و انسان ممکن است شامل هر یک از حالتهای اکولوژیک شامل همسفرگی، همزیستی و انگلی

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

تلفن: ۸۸۰۵۸۶۴۹ نمابر: ۸۸۰۵۸۷۱۹

E-mail: bojarymr@hotmail.com

باشد[۵]. پیشنهاد شده است که تنوع سویه‌ها در ایجاد بیماریهای مختلف توسط این ارگانیسم دخالت دارد[۶]. یکی از مهمترین تفاوتها بین سویه‌های *H. pylori*، حضور یا عدم حضور cytotoxin associated gene protein (cagA) است[۷]. cagA 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؛ به‌طوری 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 آندوسکوپیک معده انجام گرفت. اطلاعات مربوط به بیماران نیز به وسیله پرسشنامه به‌دست آمد. معیارهای حذف بیماران از بررسی، تاریخچه جراحی معده، بدخیمی و خونریزی فعال در معده و ابتدای روده 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 ۴°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] به‌صورت خطی کشت داده شد. از محیطهای بروسلا آگار غنی شده با ۷٪ خون گوسفند (جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران) و ۱٪ Iso Vitalx (BBL,Cokeysville,USA) و محیط Egg yolk agar حاوی 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 تری‌متوپریم (Sigma) انتخابی گردید. پس از کشت، پلیت‌ها در دمای ۳۷°C، شرایط میکروائروفیلیک (۵٪ O_2، ۱۰٪ CO_2 و ۸۵٪ N_2)، و رطوبت بالا (۱۰۰٪) به مدت ۳ تا ۷ روز گرمخانه‌گذاری شدند. *H. pylori* بر اساس شکل کلنی، رنگ‌آمیزی گرم و واکنشهای مثبت کاتالاز، اکسیداز و اوره‌آز آگار کریستنسن تعیین 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 تازهٔ سه روزه از *H. pylori*، به روش استاندارد استخراج گردید و DNA در Tris-HCl 10mM با pH=8 در دمای ۲۰°C- نگهداری شد[۲۰].

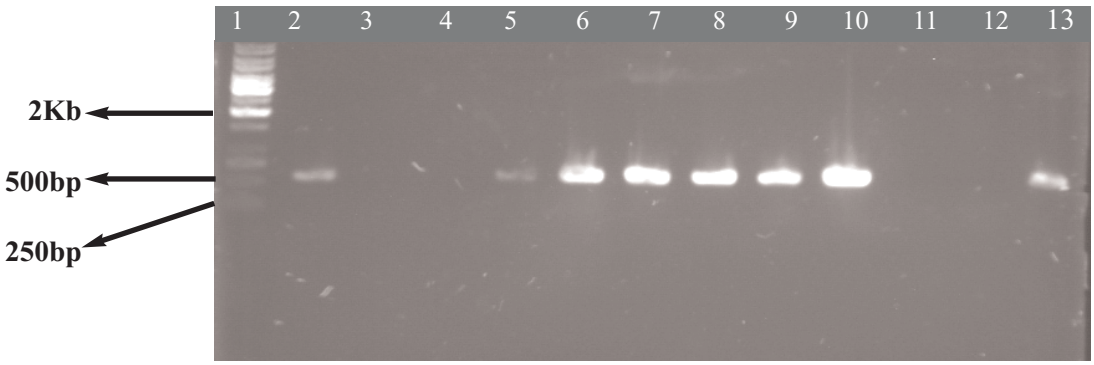
PCR: PCR در حجم ۲μL حاوی 1X buffer (P40, 50mM KCl, Tris-HCl 10mM 200mM dNTPmix, %0/8Taq DNApolymerase 1U, Nonidet) (همگی Fermentas, Lithuania) و 20mM از آغازگرهای R, F انجام شد. فرآیند PCR با دمای اتصال پرایمر ۵۸ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس محصول واکنش در ژل آگارز ۱٪ در کنار مارکر وزن مولکولی Generuler 1kb Ladder (Fermentas) 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 g

cagA-IrR: cgt tgt gag cct gtg agt tg و cagA-IrF: tgg agg استفاده شد. این آغازگرها با استفاده از نرم‌افزار OLIGO5 و توالی ژن cagA از سویه 60190 (ATCC 49503) موجود در Genbank با شماره AB015415 طراحی شدند. علاوه بر این، برای تشخیص با ثبات‌ترین 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 اوره‌آز یا کشت آن مثبت بود، عفونی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب از مجموع ۱۸۰ بیمار مراجعه‌کننده به آندوسکوپی، ۹۲ نفر (۵۱٪) با هلیکوباکتر پیلوری عفونی بودند. اما تنها ۷۹ (۴۴٪) بیمار از مجموع ۱۸۰ نفر دارای تست اوره‌آز 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 دامنهٔ 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 ازبیماران مبتلا به زخم گوارشی ۱۰۰٪، دئودنیت ۱۰۰٪ و سوءهاضمه بدون زخم ۶۱٪ بود (جدول ۱).



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

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 *H. pylori* اوره‌آز مثبت (٪)	نمونه *H. pylori* کشت مثبت (٪)	فراوانی cagA (٪)	
				منفی	مثبت
زخم گوارشی	۲۴	۱۶ (۶۷)	۱۹ (۸۰)	-	۱۹ (۱۰۰)
دئودنیت	۱۲	۱ (۸)	۱ (۸)	-	۱ (۱۰۰)
سوء هاضمه بدون زخم	۱۴۴	۶۲ (۴۳)	۷۲ (۵۰)	۲۸ (۳۹)	۴۴ (۶۱)
مجموع	۱۸۰	۷۹ (۴۴)	۹۲ (۵۱)	۲۸ (۳۰)	۶۴ (۷۰)

تجزیه و تحلیل آماری

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

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

کشورها دارای اهمیت فراوانی است. مطالعات داخلی انجام شده بر روی ژن cagA نتایج ضد و نقیضی به همراه داشته است[۲۱-۲۴]، به‌طوری 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 ناحیهٔ 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، به‌ویژه 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 به‌طور معنی‌داری بالاتر از بیماران مبتلا به سوءهاضمه بود (p= ۰/۰۰۱ و CI=٪95)؛ البته بیماریزایی سویه‌های cagA مثبت نیز می‌تواند متفاوت باشد. این تفاوت، علاوه بر عوامل محیطی و خصوصیات 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 نشان‌دهندهٔ حضور سایر ژنهای این مجموعه نخواهد بود[۲۸] و امکان حذف ژنهای بالادست ژن cagA وجود دارد. حذف این دسته از ژنها 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 حمل‌کننده 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.

مراجع

1. Blaser MJ. Ecology of Helicobacter pylori in the human stomach. *J Clin Invest* 1997; **100**: 759-69.
2. Atherton JC *et al.* The clinical relevance of strain type of Helicobacter pylori. *Gut* 1999; **40**: 701-703.
3. Karlin S. Detecting anomalous gene clusters and pathogenicity island in diverse bacterial genomes. *Trends in Microbiol* 2001; **9**: 335-43.
4. 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.
5. Balser MJ, Atherton JC Helicobacter pylori: biology and disease. *J Clin Invest* 2004; **113**: 321-33.
6. 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.
7. 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.
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.
9. 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.
10. Censini S, Lang C, Xiang Z *et al.* cag a pathogenicity island of Helicobacter pylori, encodes type I-Specific and disease associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci* 1996; **93**: 14648-53.
11. Hacker J, and Kaper JB. The Concept of Pathogenicity Islands. In: Kapper JB, Hacker J, editors. Pathogenicity Island and other Mobile Virulence Elements. Washington D.C., ASM press; 1999. p: 1-11.
12. 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 Infec Dis* 2004; **178**: 220-226.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Blaser MJ. Not all Helicobacter pylori strains are created equal :should all be eliminated ?. *Lancet* 1997; **349**: 1020-2.
17. 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 سویه‌های 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 میکروبشناسی، ۶-۱۸۵.

۲۲. بازرگانی عبداله، صابرپور 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 میکروبشناسی، ۱۳۸۲.

۲۳. بازرگانی عبداله، اکرامی علیرضا. بررسی حضور ژن cagA در هلیکوباکتر پیلوری و ارتباط آن با شکل بالینی بیماری با روش PCR . خلاصه مقالات پنجمین کنگره میکروبشناسی، صفحه ۱۸۲.

۲۴. محمدی مرجان، مهاجرانی نازنین، عقلایی اکبر و همکاران. تشخیص وجود هلیکوباکتر پیلوری و شاخصهای بیماریزایی آن از طریق واکنش زنجیره پلیمراز (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.

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

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

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. *Govaresh* 2004; **9**: 176-80

Keywords: *Helicobacter pylori*, PUD, CagA