مجله میکروب شناسی پزشکی ایران
سال ۲ شماره ۱ بهار ۱۳۸۷، صفحات ۳۱-۳۶

ارزیابی ارتباط ژن وابسته به سیتوتوکسین (*cagA*) بااختلالات گوارشی در مبتلایان به عفونت هلیکوباکتر پیلوری

معصومه دورقی [۱،۲]، مرجان محمدی [۲]، محمد حسن شیرازی*[۱]، مریم اسماعیلی [۲]، مریم بابابیک [۲]، سمانه صابری کاشانی [۲]،اکبر عقلایی [۲]، نازنین مهاجرانی [۲]

۱) بخش باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲) گروه تحقیقات هلیکوباکتر، بخش بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران
نویسنده رابط: محمد حسن شیرازی، بخش باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
تلفن: ۶۶۱۱۲۳۷۹ mhshirazi@sina.tums.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۲/۱۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۷/۳/۲۹

چکیده :

زمینه و اهداف: هلیکوباکتر پیلوری عامل التهاب معده و زخم های گوارشی و عامل خطر ایجاد آدنوکارسینومای معده به شمار می آید. ژن وابسته به سیتوتوکسین A (*cagA*) یکی از مهمترین شاخص های بیماریزایی این باکتری می باشد که به دلیل تنوع ژنتیکی در نواحی جغرافیایی مختلف از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ژن مذکور در بیماران دچاراختلالات گوارشی و ارزیابی آن به منظور غربالگری بیماران در معرض خطر بالا می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه ۱۸۰ بیمار دچار اختلالات گوارشی مراجعه کننده به بخش اندوسکوپی بیمارستان امیر اعلم یا انستیستو کانسر شهر تهران وارد مطالعه شدند. از میان ۱۲۰ بیماری که هلیکوباکتر پیلوری از آنها جدا شد،۸۱ بیمار دچار سوء هاضمه بدون زخم، ۱۷ بیمار دچار زخم گوارشی و ۲۲ بیمار مبتلا به سرطان معده بودند. پس از کشت، جداسازی باکتری و استخراج ژنوم جستجوی ناحیه حفاظت شده ژن وابسته به سیتوتوکسین با استفاده از PCR انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون مجذور کای انجام شد.

یافته ها: ۱۲۰ سویه هلیکوباکتر پیلوری از ۱۸۰ بیمار مورد بررسی جدا شد. از میان ۱۲۰ سویه مورد بررسی، ۱۰۱ سویه (۸۴/۲٪) *cagA* مثبت بودند و ۱۹ سویه باقیمانده (۱۵/۸٪) *cagA* منفی بودند. تمام بیماران دچار سرطان معده سویه های *cagA* مثبت را حمل می کردند و وجود این ژن با سرطان معده در مقایسه با بیماران دچار سوء هاضمه بدون زخم، ارتباط معنی داری را نشان داد. در عین حال با سایر اشکال بالینی اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

نتیجه گیری : به دلیل پراکندگی یکنواخت ژن *cagA* در بیماران دارای علایم بالینی متفاوت ، بررسی حضور ژن *cagA* به تنهایی نمی تواند به عنوان شاخص تعیین کننده برای یک پیامد بالینی ناشی از عفونت هلیکوباکتر پیلوری باشد.

کلید واژه ها : ژن وابسته به سیتوتوکسین A ، سرطان معده، زخم گوارشی

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه:

هلیکوباکتر پیلوری باکتری گرم منفی، میکروآئروفیل و کند رشد است که عامل اتیولوژیک گاستریت مزمن و فاکتور خطر موثر در ایجاد بیماری هایی نظیر زخم معده و دوازدهه و آدنوکارسینومای معده می باشد. بیش از نیمی از جمعیت جهان به هلیکوباکتر پیلوری آلوده می باشند و شیوع آلودگی هلیکوباکتر پیلوری در کشورهای در حال توسعه بالاتر است به طوری که بیش از ۸۰٪ جمعیت کشورهای در حال توسعه به هلیکوباکتر پیلوری آلوده می باشند(۱،۲).

مطالعات متعدد نشان داده است که شاخص های بیماریزایی باکتری، ژنتیک میزبان و عوامل محیطی در ایجاد بیماری های گوارشی نقش دارند (۳). از میان شاخص های بیماریزایی متعدد، مطالعه ژن وابسته به سیتوتوکسین A (cytotoxin-associated gene A) به دلیل ناهمگونی ژنتیکی در نواحی جغرافیایی مختلف از یک سو و تداخل در چرخه سلولی از سوی دیگر از اهمیت خاصی برخوردار است (۶-۴). ژن *cagA* فاکتور ویرولانس غیر حفاظت شده است و در ۶۰ تا ۹۰٪ سویه های هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد، به طوری که بنا بر برخی گزارش ها، بیش از ۹۰٪ سویه های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از کشورهای آسیایی و ۶۰ تا ۷۰٪ سویه های کشورهای اروپایی و آمریکای شمالی از نظر ژن *cagA* مثبت هستند (۷،۸). ژن *cagA* در ناحیه I از جزیره بیماریزایی *cag* (*cag* PAI) قرار دارد و یکی از ژن های شاخص جزیره بیماریزایی می باشد. *cag* PAI یک لوکوس ۴۰ کیلوبازی است که درصد گوانین ـ سیتوزین آن (۳۵٪) با دیگر نواحی ژنوم (۳۹٪) متفاوت است و طی انتقال افقی به برخی از سویه های هلیکوباکتر پیلوری منتقل شده است (۹،۱۰). این جزیره دارای ۳۱ ژن است که ۶ ژن این جزیره، سیستم ترشحی نوع چهار را رمزدهی می کنند و در تعامل باکتری- میزبان و روند بیماریزایی نقش دارند. *CagA* یکی از پروتئین های سطحی غشاء خارجی هلیکوباکتر پیلوری است که از قدرت ایمنی زایی بالایی برخوردار است و پس از ورود به سلول های اپی تلیال معده منجر به دوکی شدن سلول میزبان می شود؛ بنابراین پروتئین *CagA* می تواند به طور مستقیم پس از ورود به سلول هدف و تداخل با سیستم های پیام رسانی سلول، عامل افزایش ویرولانس باکتری باشد و یا اینکه وجود آن در برخی سویه های هلیکوباکتر پیلوری بیانگر وجود جزیره بیماریزایی *cag* PAI باشد. به نظر می رسد که شدت بیماری های گوارشی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری با وجود جزیره بیماریزایی *cag* در ارتباط باشد و عفونت با سویه های هلیکوباکتر پیلوری *cagA* مثبت با زخم دوازدهه، آتروفی مخاط معده و سرطان معده همراهی داشته باشد (۱۱-۱۳). از سوی دیگر برخی مطالعات نشان داده اند که سویه های هلیکوباکتر پیلوری *cagA* مثبت با توان بیشتری در مقایسه با سویه های *cagA* منفی، آپوپتوزیس را در سلول های AGS القاء می نماید (۱۴،۱۵). بنابراین به نظر می رسد حضور ژن *cagA* یک عامل کلیدی در تعامل باکتری و میزبان باشد که منجر به اختلالات گوارشی گردد.

از آنجا که تمام افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری نیاز به درمان ریشه کن کننده باکتری ندارند، راهکار دقیق غربالگری به منظور شناسایی بیماران آلوده به سویه های با فاکتور خطر بالا که ممکن است باعث زخم معده یا سرطان معده شوند، ضروری است. در این مطالعه ژن *cagA* سویه های جدا شده از بیماران گوارشی مختلف به منظور غربالگری بیماران در معرض خطر بالا ارزیابی می گردد.

مواد و روش ها:

جمعیت مورد مطالعه: جمعیت مورد مطالعه ۱۸۰ بیمار دچار اختلالات گوارشی مراجعه کننده به بخش اندوسکوپی بیمارستان امیراعلم یا انستیتو کانسر شهر تهران بودند. از میان ۱۲۰ بیمار آلوده به هلیکوباکتر پیلوری ۸۱ بیمار دچار سوء هاضمه بدون زخم، ۱۷ بیمار دچار زخم گوارشی و ۲۲ بیمار مبتلا به سرطان معده بودند. لازم به ذکر است که ضرورت انجام اندوسکوپی برای بیماران با تشخیص پزشک از قبل تعیین گردیده و پیش از اندوسکوپی توسط پزشک متخصص، از بیماران رضایت نامه آگاهانه مورد تأیید کمیته اخلاق پزشکی بمنظور استفاده از نمونه های بیوپسی گرفته شد.

سویه های باکتری: سویه های هلیکوباکتر پیلوری عمدتاً از دو بیوپسی ناحیه آنترم جدا شدند. نمونه های بیوپسی همگن گردیده و روی محیط اختصاصی هلیکوباکتر پیلوری (HPSPA) کشت داده شدند(۱۶) و سپس در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد در شرایط میکروآئروفیل (۱۰٪ دی اکسید کربن، ۵٪ اکسیژن و ۸۵٪ نیتروژن) تا ۵ روز نگهداری شدند. تعیین هویت کلنی های بدست آمده بر اساس شکل و رنگ کلنی، رنگ آمیزی گرم و تست های بیوشیمیایی اوره آز و کاتالاز انجام شد. یک تک کلنی برای مطالعات بعدی تکثیر داده شد.

استخراج DNA و PCR: رسوب باکتری حاصل از کشت و تکثیر یک تک کلنی در محلول ۵۰ میلی مولار سود در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد، سپس در محلول ۱ مولار تریس ـ اسید کلریدریک به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. محلول رویی حاصل، حاوی DNA ژنومی بوده که به عنوان الگو

Archive of SID

www.SID.ir

برای واکنش زنجیره پلی مراز مورد استفاده قرار گرفت (۱۷). ابتدا با استفاده از پرایمر های اختصاصی ژن *ureC* هویت سویه های هلیکوباکتر پیلوری به روش مولکولی تأیید شد(۱۸). در مرحله بعد جهت تعیین حضور ناحیه حفاظت شده ژن *cagA* از پرایمرهای F1 (5'-GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG-3') و B1 (5'-GCGTCAAAATAATTCCAAGG-3') استفاده شد (۱۹). در تمام مراحل از سویه هلیکوباکتر پیلوری ۲۶۶۹۵ به عنوان سویه کنترل استفاده شد. تکثیر ژن های مورد نظر در حجم ۲۰ میکرولیتر با استفاده از ۲ میکرولیتر بافر، ۱/۵ میلی مولار منیزیم کلراید ، ۰/۵ میکرولیتر از پرایمرها (۲۵ پیکومول/ میکرولیتر)، ۰/۲ میلی مولار داکسی نوکلئوتید و ۰/۵ واحد آنزیم Taq polymerase انجام شد. محصولات PCR بااستفاده از ژل آگاروز ۲٪ الکتروفورز شده و پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید زیر نور ماوراء بنفش مشاهده شدند.

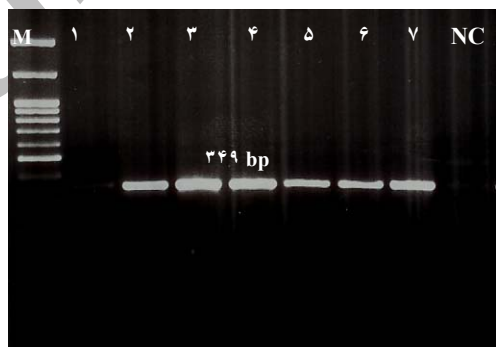
تجزیه و تحلیل آماری: داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای آنالیزهای یک طرفه، تست مجذور کای و آزمون دقیق فیشر استفاده شد. P کمتر یا مساوی ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

در این مطالعه ۱۸۰ بیمار با میانگین سنی ۴۴ سال شامل ۶۵ مرد و ۵۵ زن بررسی شدند. میان سن بیمار و پیامد بیماری ارتباط معنی داری یافت شد، به طوری که ۹۰/۹ درصد (۲۰ بیمار از ۲۲ بیمار سرطانی) بیماران دچار سرطان معده سن بالای ۴۰ سال داشتند ($P<۰/۰۰۱$).

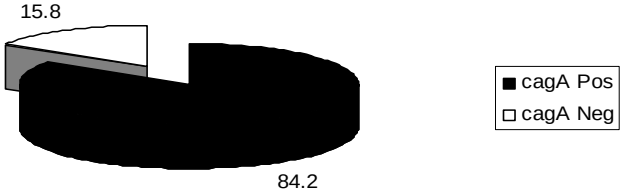
آلودگی بیماران به هلیکوبکتر پیلوری به روش کشت بررسی شد و ۱۲۰ سویه جدا شد. هویت تمام ۱۲۰ سویه هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران دچار اختلالات گوارشی مختلف به روش مولکولی تأیید شد، به طوری که تمام سویه ها با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *ureC* تکثیر شده و محصول PCR به طول ۲۹۴ جفت باز تولید شد که نشان دهنده حضور هلیکوباکتر پیلوری می باشد.

از میان ۱۲۰ سویه مورد بررسی، ۱۰۱ سویه (۸۴/۲٪) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ناحیه حفاظت شده ژن *cagA* تکثیر شده، قطعه به طول ۳۴۹ جفت باز تولید شده و *cagA* مثبت در نظر گرفته شدند (شکل ۱). ۱۹ سویه باقیمانده (۱۵/۸٪) *cagA* منفی بودند (نمودار ۱). فراوانی ژن *cagA* بر حسب وضعیت بالینی بیماران در جدول ۱ آمده است. فراوانی ژن *cagA* در بیماران دچار سرطان معده (۱۰۰٪) کمی بالاتر از بیماران دچار زخم گوارشی (۹۴/۱٪) است. تمام بیماران که دچار سرطان معده بودند با سویه های *cagA* مثبت آلوده بودند. بیش از نیمی از بیماران دچار سوء هاضمه بدون زخم (۷۷/۸٪) نیز با سویه های *cagA* مثبت آلوده بودند. حضور سویه های *cagA* مثبت به طور معنی داری با سرطان معده در مقایسه با بیماران دچار سوء هاضمه بدون زخم همراهی داشت ($P<۰/۰۵$).



شکل ۱: قطعات ۳۴۹ جفت باز محصول تکثیر ژن *cagA* ، M مارکر ۱۰۰ جفت باز و NC کنترل منفی

نمودار ۱: فراوانی ژن *cagA* سویه های هلیکوباکتر پیلوری



Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱: توزیع فراوانی مطلق و نسبی ژن *cagA* بر حسب گروه بیماری

ژن / گروه بیماری	*cagA* تعداد (درصد)		جمع
	مثبت	منفی	
سوء هاضمه بدون زخم	۶۳ (۷۷/۸)	۱۸ (۲۲/۲)	۸۱ (۱۰۰)
زخم گوارشی	۱۶ (۹۴/۱)	۱ (۵/۹)	۱۷ (۱۰۰)
سرطان معده	۲۲ (۱۰۰)	۰ (۰)	۲۲ (۱۰۰)
جمع	۱۰۱ (۸۴/۲)	۱۹ (۱۵/۸)	۱۲۰ (۱۰۰)
نتیجه آزمون آماری	$P = ۰/۰۱۹$		

بحث:

هلیکوباکتر پیلوری عامل اتیولوژیک التهاب معده، زخم گوارشی و فاکتور خطر ابتلاء به سرطان معده به شمار می آید. هر یک از عوارض ناشی از عفونت با هلیکوباکتر پیلوری یک روند چند عاملی است که به ویژگی های خاص ارگانیسم، میزبان و عوامل محیطی بستگی دارد (۱-۳). به نظر می رسد تنوع ژنتیکی سویه ها یکی از عوامل کلیدی موثر در ایجاد بیماری های گوارشی مختلف باشد. علاوه بر این، تنوع جغرافیایی قابل توجهی در میان سویه های هلیکوباکتر پیلوری در سراسر جهان وجود دارد (۴،۸).

جزیره بیماریزایی *cag* یکی از مهمترین شاخص های بیماریزایی هلیکوباکترپیلوری به شمار می آید، به طوری که سویه های فاقد این جزیره، بیماریزایی کمتری دارند. ژن *cagA* بزرگترین قطعه ژنی این جزیره می باشد، بنابراین بررسی حضور ژن *cagA* می تواند دال بر حضور جزیره مذکور باشد.

این مطالعه به بررسی حضور ژن شاخص جزیره بیماریزایی *cag* پرداخته است و ارزش ردیابی این ژن را به منظور غربالگری بیماران در معرض خطر بالا تعیین نموده است. در صورت حضور ژن *cagA*، محصول PCR به طول ۳۴۹ جفت باز تکثیر می شد. بررسی حضور ژن *cagA* در بیماران مورد بررسی نشان داد که ۸۴/۲٪ از افراد دچار بیماری های گوارشی، سویه های *cagA* مثبت را حمل می کردند. مقایسه فراوانی ژن *cagA* در سویه های هلیکوباکتر پیلوری ایرانی با کشورهای غربی نشان می دهد که فراوانی این ژن بالاتر از کشورهای غربی می باشد و فراوانی مشابهی با کشورهای آسیای جنوب شرقی از جمله کره (۹۷٪) و ژاپن (۹۵٪) دارد(۲۱،۲۰). فراوانی ژن *cagA* در کشور برزیل نیز بالا (۹۴٪) گزارش شده است (۲۲). تنوع فراوانی ژن *cagA* در کشورهای مختلف ممکن است بدلیل تفاوت جمعیت بیماران مورد مطالعه و تنوع ژنتیکی سویه های مورد بررسی باشد.

مطالعه انجام شده توسط دوستی و همکاران در شهرستان شهرکرد میزان فراوانی ژن *cagA* را ۸۳/۵٪ گزارش نمود (۲۳). دیگر مطالعه انجام شده توسط شکوهی زاده و همکاران درتهران، میزان پراکندگی این ژن را ۳۵/۱۸٪ گزارش نمود (۲۴). تفاوت فراوانی ژن *cagA* گزارش شده در مطالعه کنونی و مطالعه دوستی و همکاران با مطالعه شکوهی زاده عمدتاً می تواند مربوط به استفاده از پرایمرهای متفاوت به منظور جستجوی ژن مذکور می باشد؛ در حالیکه دوستی و همکاران با استفاده از پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه فراوانی تقریباً مشابهی را علیرغم انجام مطالعه در محل جغرافیایی متفاوت از محل مطالعه کنونی گزارش نمودند؛ بنابراین می توان تا حدودی بر اساس مطالعات انجام شده در کشور ما نتیجه گرفت که ژن *cagA* از فراوانی یکسانی در سویه های ایرانی مناطق جغرافیایی متفاوت برخوردار است.

نکته قابل ذکر این است که اگر چه صد در صد بیماران دچار سرطان معده حامل سویه های *cagA* مثبت بودند، ژن *cagA* در گروه های مختلف بیماران تقریباً فراوانی مشابهی داشت و ارزش ردیابی این ژن را به منظور غربالگری بیماران دچار اختلالات گوارشی مختلف از جمله بیماران دچار زخم گوارشی و بیمارانی که دچار سوء هاضمه می باشند را همچنان مورد سوال قرار می دهد.

نتیجه گیری:

در این مطالعه نشان داده شده است که ژن *cagA* با سرطان معده در مقایسه با بیماران دچار سوء هاضمه بدون زخم ارتباط معنی دار

Archive of SID

www.SID.ir

دارد؛ اما به دلیل پراکندگی یکنواخت ژن *cagA* در دیگر گروه های بیماران، بررسی حضور ژن *cagA* به تنهایی نمی تواند به عنوان شاخص تعیین کننده برای یک پیامد بالینی ناشی از عفونت هلیکوباکتر پیلوری باشد. وضعیت مشابهی در دیگر کشورهای آسیایی که تعداد زیادی از افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری ژن *cagA* را حمل می کند وجود دارد و ارتباطی میان حضور ژن *cagA* و بیماری نیز یافت نشده است. بنابراین به نظر می رسد که غربالگری افراد در معرض خطر مستلزم یافتن و بررسی دیگر شاخص های بیماریزایی است که در ایجاد بیماری نقش داشته باشند؛ از سوی دیگر به نظر می رسد بررسی عملکرد ژن *cagA* بتواند تا حدودی در غربالگری بیماران موثر باشد.

فهرست مراجع:

1. Blaser M. *Helicobacter pylori* and pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J Infec Dis* 1990; **161**(4):626-33.
2. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002; **347**(15):1175-86.
3. Nguyen TN, Barkun AN, Fallone CA. Host determinants of *Helicobacter pylori* infection and its clinical outcome. *Helicobacter* 1999; **4** (3):185-97.
4. Azuma T, Yamakawa A, Yamazaki S, Ohtani M, Ito Y, Muramatsu A, *et al*. Distinct diversity of the *cag* Pathogenicity Island among *Helicobacter pylori* strains in Japan. *J Clin Microbiol* 2004; **42**: 2508-17.
5. Backert S, Schwarz T, Miehlke S, Kirsch C, Sommer C, Kwok T, *et al*. Functional Analysis of the *cag* Pathogenicity Island in *Helicobacter pylori* isolates from patients with Gastritis, Peptic Ulcer, and Gastric Cancer. *Infect Immun* 2004; **72** (2):1043-56.
6. Zhang Y, Argent RH, Letley DP, Thomas RJ, Atherton JC. Tyrosine phosphorylation of *cagA* from Chinese *Helicobacter pylori* isolates in AGS gastric epithelial cells. *J Clin Microbiol* 2005;**43**(2):786-90.
7. Yamaoka Y, Graham DY. Clarifications regarding the 3´ repeat region of the *cagA* gene in *Helicobacter pylori* and clinical outcome. *J Clin Microbiol* 2001; **39** (6): 2369-70.
8. Atherton JC. The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1997; **40** (6): 701-3.
9. Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, *et al*. *cag*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type-I specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**(25): 14648-53.
10. Akopyants NS, Clifton SW, Kersulyte D, Crabtree JE, Youree BE, Reece CA, *et al*. Analyses of the *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 1998; **28** (1): 37-53.
11. Kidd M, Lastovica AJ, Atherton JC, Louw JA. Heterogeneity in *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genes: association with gastroduodenal disease in South Africa? *Gut* 1999; **45** (4): 499-502
12. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, *et al*. Infection with *Helicobacter pylori* strains possessing *cagA* is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Res* 1995; **55** (10): 2111-5
13. Parsonnet J, Friedman GD, Orentreich N, Vogelman JH. Risk of gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative *Helicobacter* pylori infection. *Gut* 1997; **40** (3): 297-301.
14. Wu YY, Tsai HF, Lin WC, Chou AH, Chen HT, Yang JC, *et al*. *Helicobacter pylori* enhances tumor necrosis factor- related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in human gastric epitheial cells. *World J Gastroenterol* 2004; **10** (16): 2334-9
15. Maeda S, Yoshida H, Mitsuno Y, Hirata Y, Ogura K, Shiratori Y, *et al*. Analysis of apoptotic and antiapoptotic signaling pathways induced by *Helicobacter pylori*. *Gut* 2002; **50** (6): 771-8
16. Stevenson TH, Castillo A, Lucia LM, Acuff GR.Growth of *Helicobacter pylori* in various

Archive of SID

www.SID.ir

liquid and plating media. *Lett Appl Microbiol* 2000; **30**(3):192-6.
17. Sambrook, J. and Russell, D. (2001). Molecular cloning. 3 rd ed. Cold Spring Harbor Lab Press. USA
18. Labigne A, Cussac V, Courcoux P. Shuttle cloning and nucleotide sequencing of *Helicobacter pylori* genes responsible for urease activity. *J Bacteriol* 1991;**173**(6):1920–31
19. Tummuru M, Cover T, Blaser M.Cloning and expression of a high molecular mass major antigen of *Helicobacter pylori*: evidence of linkage to cytotoxin production. *Infect Immun* 1993; **61**(5):1799–809
20. Kim SY, Woo CW, Lee YM, Son BR, Kim JW, Chae HB, *et al*. Genotyping *cagA*, *vacA* subtype, *iceA1*, and *babA* of *Helicobacter pylori* isolates from Korean patients, and their association with gastroduodenal diseases. *J Korean Med Sci* 2001; **16**(5) :579–84.
21. Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T, Ogura K, Kanai F, Kato N, *et al*. Structure of *cag* pathogenicity island in Japanese *Helicobacter pylori* isolates. *Gut* 1999; **44** (3): 336-41
22. Ashour AA, Magalhaes PP, Mendes EN, Collares GB, de Gusmão VR, Queiroz DM, *et al*. Distribution of *vacA* genotypes in *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer, or gastric carcinoma. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2002; **33** (3):173–8.
۲۳. دوستی ع ، رحیمیان ق ، نصیری ج ، یاوری فروشانی پ . بررسی میزان فراوانی ژن وابسته به سیتوتوکسین در سویه های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از نمونه های بیوپسی معده در شهرستان شهرکرد ، مجله ارمغان دانش ۱۳۸۶، دوره ۱۲، شماره ۱،صص ۲۹ تا ۳۸.
۲۴. شکوهی زاده ل ، محبتی مبارز الف ، صادقی زاده م ، امینی م. بررسی ارتباط ژن *cagA* در هلیکوباکتر پیلوری و یافته های آندوسکوپی، مجله پزشکی کوثر ۱۳۸۵، دوره ۱۱، شماره ۳، صص ۲۶۱ تا ۲۶۶.

Archive of SID

www.SID.ir