مقاله پژوهشی

بررسی فراوانی ژن $babA_2$ در افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مراجعه کننده به بیمارستان فیروزگر تهران

محمد حسن شیرازی [۱]، زهراپاکباز [۲]، معصومه دورقی [۳]، محمدرضا پورمند [۱]، حسین اژدرکش [۴]،امیر علی رمضانی [۲]

[۱] دانشیار، بخش میکروب شناسی پزشکی، دانشکده دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۲] پژوهشگر، بخش میکروب شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران،تهران، ایران
[۳] استادیار، بخش میکروب شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۴] استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، بیمارستان فیروزگر، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف:
ژن babA۲ در اتصال هلیکوباکتر پیلوری به سلول های اپی تلیال معده ضروری می‌باشد. میزان فراوانی این ژن در مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت است. هدف از این مطالعه ارزیابی فراوانی این ژن در انواع بیماری های کلینیکی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری است.

روش بررسی:
نمونه بیوپسی برحسب تشخیص پزشک از بیماران دچار اختلالات گوارشی گرفته شد. یک نمونه به منظور انجام تست آوره از و یک نمونه به منظور استخراج DNA به آزمایشگاه ارسال شد. پس از استخراج DNA، حضور ژن babA۲ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن بررسی شد.

یافته‌ها:
از میان ۸۲ نمونه مورد بررسی، ۵۶ نمونه (۶۸/۳٪) از نظر ژن babA۲ مثبت بودند. فراونی این ژن در نمونه های مربوط به سرطان معده (۸۴/۶٪) بیشتر از فراوانی آن در نمونه های مربوط به زخم معده (۶۶/۷٪)، زخم دوازدهه (۶۱٪) و گاستریت (۶۶/۷٪) بود. ارتباط معنی داری بین حضور این ژن و نوع بیماری کلینیکی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری:
فراونی ژن babA۲ در نمونه های سرطان معده نسبت به سایر بیماری های گوارشی بالاتر بود. ولی ارتباط معنی داری بین حضور این ژن و سرطان معده مشاهده نشد. با این حال در مطالعات قبلی حضور ژن babA۲ با بعضی از بیماری های ناشی از هلیکوباکتر پیلوری مانند زخم دوازدهه و سرطان معده نشان داده شده است که این تناقض می‌تواند مرتبط با تنوع جغرافیایی یا تفاوت در حجم نمونه باشد.

کلید واژه: هلیکوباکتر پیلوری، ژنbabA۲، بیماری های گوارشی.

گوارش/ دوره ۱۷، شماره۲/ تابستان ۱۳۹۱/ ۸۳-۷۸

زمینه و هدف:
هلیکوباکترپیلوری، باکتری گرم منفی، کند رشد و میکروائروفیل است که اولین بار در سال ۱۹۸۲ جدا سازی شد.(۱)، کلونیزه شدن این باکتری در معده انسان منجر به ایجاد طیف متنوعی از بیماری ها از گاستریت ساده تا زخم معده ، لنفوم و سرطان معده می‌شود. میزان شیوع این باکتری در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته به ترتیب ۹۰ و ۵۰-۳۰ درصد می‌باشد.(۲) مطالعات متعددی نشان داده است که فاکتورهای مربوط به میزبان و باکتری، هر دو در تعیین عواقب کلینیکی و پاتولوژیک ایجاد شده توسط باکتری نقش دارند. در میان فاکتورهای باکتریایی، فاکتورهای اتصالی به علت شروع کلونیزاسیون و راه اندازی پاسخ های التهابی میزبان نقش حیاتی دارند.(۳ و۴)

پروتئین BabA۲ یک فاکتور اتصالی مهم در هلیکوباکتر پیلوری است که باعث اتصال هلیکوباکتر پیلوری به آنتی ژن گروه خونی Lewis b بر روی سلول های اپی تلیال معده می‌شود.(۵) ژن کد کننده این پروتئین

نویسنده مسئول: محمدحسن شیرازی
بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
تلفن و نمابر : ۸۸۹۵۳۰۲۱-۰۲۱
پست الکترونیک : mhshirazi@tums.ac.ir

تاریخ دریافت : ۹۰/۱۱/۹
تاریخ اصلاح نهایی : ۹۱/۱/۱۵
تاریخ پذیرش : ۹۱/۱/۱۶

(babA) دارای دو الل babA۱ و babA۲ است که الل babA۱ فرم غیرفعال و الل babA۲ فرم فعال این ژن می‌باشد. بنابراین ردیابی الل babA۲ به وسیله PCR نشان دهنده فعالیت این ژن می‌باشد.(۶) مطالعات مختلف حضور ژن babA۲ را با نوع بیماری ایجاد شده در اثر هلیکوباکتر پیلوری مرتبط دانسته اند و خاطر نشان کرده اند که نوع این ارتباط در مناطق جغرافیایی مختلف متفاوت است. یک سری مطالعات در کشورهای غربی وجود ارتباطی بین زخم دوازدهه و سرطان معده را با حضور ژن babA۲ نشان داده است. با این حال اغلب سویه های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده در کشورهای آسیایی دارای ژن babA۲ می‌باشند و این ژن در این کشورها با بیماری خاصی ارتباط داده نشده است.(۱۱-۷)

بنابراین به نظر می رسد حضور ژن babA۲ هلیکوباکتر پیلوری یک عامل مهم در تعامل باکتری و میزبان باشد که منجر به اختلالات گوارشی می‌گردد. از آنجا که تمام افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری نیاز به درمان ریشه کنی باکتری ندارند، راهکار دقیق غربالگری به منظور شناسایی بیماران آلوده به سویه ها با فاکتور خطر بالا ضروری به نظر می‌رسد. بدین منظور در این مطالعه ژن babA۲ در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری بررسی شده است.

روش بررسی:

جمعیت مورد مطالعه : جمعیت مورد مطالعه ۱۲۰ بیمار با اختلال گوارشی مراجعه کننده به بخش اندوسکوپی بیمارستان فیروزگر تهران و بیماران بستری در بخش داخلی (گوارش) این بیمارستان بود که بنا بر تشخیص پزشک متخصص تحت اندوسکوپی قرار گرفتند. در بین ۸۲ بیمار آلوده به هلیکوباکتر پیلوری ۳۶ بیمار دچار گاستریت، ۱۳ بیمار دچار سرطان معده، ۱۸ بیمار دچار زخم دوازدهه و ۱۵ بیمار دچار زخم معده بودند. لازم به ذکر است که قبل از انجام اندوسکوپی از بیماران رضایت نامه کتبی جهت اخذ نمونه گرفته شد.

استخراج DNA : نمونه هایی که آزمون اوره از سریع آنها مثبت می‌شد به عنوان نمونه های مشکوک به آلودگی با هلیکوباکتر در نظر گرفته می‌شدند و جهت استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل می‌شدند. جهت استخراج DNA از کیت DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Germany) و برطبق دستورالعمل کیت استفاده شد. سپس DNA استخراج شده تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد سانتی گراد ذخیره شد.

PCR جهت ردیابی ژنهای ureA و babA۲ : جهت تأیید وجود هلیکوباکتر پیلوری در نمونه های اوره از مثبت، از تکثیر بخشی از ژن محافظت شده ureA استفاده شد. نمونه های دارای این ژن محصولی با اندازه ۴۱۱ جفت باز تولید می‌کنند. نمونه هایی که دارای آزمون اوره از سریع مثبت و دارای باند اختصاصی برای ژن ureA همزمان بودند به عنوان نمونه های آلوده به هلیکوباکتر پیلوری در نظر گرفته شدند. نمونه هایی دارای آزمون اوره از سریع مثبت ولی فاقد باند اختصاصی ژن ureA از مطالعه خارج شدند. در مرحله بعد جهت تعیین حضور ژن babA۲ در نمونه های آلوده به هلیکوباکتر پیلوری از یک جفت پرایمر که قادر به تکثیر قطعه ای با اندازه ۸۳۲ جفت باز بود استفاده شد. توالی پرایمرها برای ژن ureA و babA۲ به ترتیب عبارتند از:

ژن ureA (۱۲)

پرایمر پیشرو: ureAF۵'-CCCAATGGTAAATTAGTT-۳'

پرایمر پیرو: ureAR۵'-CTCCTTAATTGTTTTTAC-۳'

ژن babA۲ (۱۳)

پرایمر پیشرو:babA۲F۵'-AATCCAAAAAGGAGAAAAAGTATGAAA- ۳'

پرایمر پیرو:babA۲R۵'-TGTTAGTGATTTCGGTGTAGGACA-۳'

جهت انجام PCR یک حجم ۵۰ میکرولیتری شامل ۲۰ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۲۵ میکرولیتر HotStarTaq Master Mix Kit، ۴ میکرولیتر پرایمر(۴۰۰ng) (Forward and Reverse primer) و ۱ میکرولیتر DNA استخراج شده استفاده شد.

برنامه مورد استفاده برای ژن ureA عبارت بود از : دمای دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی گراد اولیه به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی شامل: سیکل ۹۵ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه، ۴۵ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه و در نهایت دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱۰ دقیقه.

با در نظر گرفتن دمای anealing ۵۵ درجه سانتی گراد برای ژن babA۲، برنامه مورد استفاده برای babA۲ مانند برنامه ذکر شده در بالا است .

در نهایت ۱۰ میکرولیتر از محصول هر PCR ، در ژل ۱ درصد آگاروز رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد و سپس با استفاده از UV ترانس لومینیتور در حضور یک نشانگر DNA ,۱۰۰bp (fermentas) باندها مشاهده و با مارکر مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده ها در نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ وارد شده و با استفاده از آزمون آماری Fisher's Exact test مورد بررسی قرار گرفتند. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها :

آلودگی بیماران با هلیکوباکتر پیلوری به روش مولکولی تأیید شد. بدین صورت که نمونه های دارای این باکتری با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن ureA تکثیر شده و محصول PCR با اندازه ۴۱۱ جفت باز را تولید کردند.(شکل ۱)

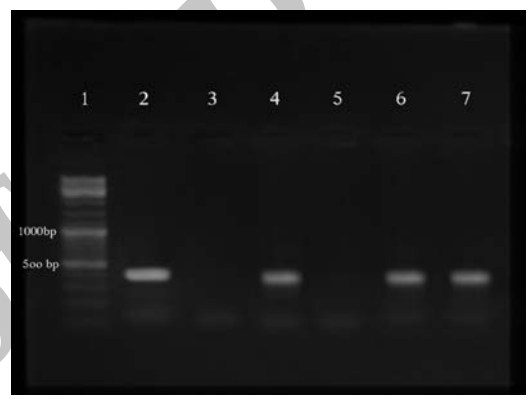
حضور ژن babA۲ در ایزوله های کلینیکی ۸۲ بیمار گوارشی مبتلا به

Archive of SID

SID.ir

جدول۱: فراوانی ژن babA۲ در نمونه های هلیکوباکترپیلوری

وضعیت بالینی / babA۲	سرطان معده	زخم معده	زخم دوازدهه	گاستریت
مثبت	۱۱(٪۸۴/۶)	۱۰(٪۶۶/۷)	۱۱(٪۶۱)	۲۴(٪۶۶/۷)
منفی	۲(٪۱۵/۴)	۵(٪۳۳/۳)	۷(٪۳۹)	۱۲(٪۳۳/۳)
جمع	۱۳	۱۵	۱۸	۳۶



شکل ۱: تصویر الکتروفورز محصولات PCR ژن ureA.

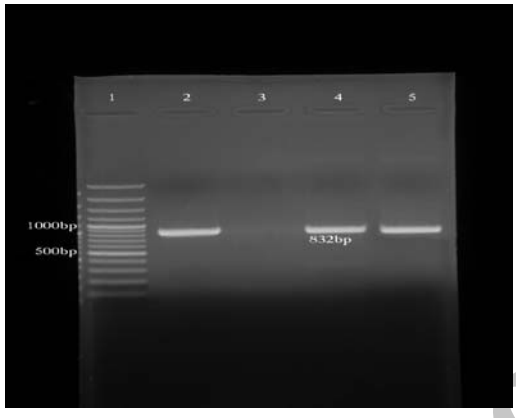
به ترتیب:

چاهک ۱: مارکر DNA، چاهک ۲ کنترل مثبت مربوط به سویه ATCC ۴۳۵۰۴ ،

چاهک ۳ : کنترل منفی،

چاهک ۶،۴ و۷ : نمونه های دارای ژن ureA.

چاهک ۵ : نمونه فاقد ژن ureA.



شکل۲: تصویر الکتروفورز محصولات PCR ژن babA۲.

به ترتیب:

چاهک ۱: مارکر DNA، چاهک ۲: کنترل مثبت مربوط به سویه ATCC ۴۳۵۰۴،

چاهک ۳: کنترل منفی،

چاهک ۵ و۴: نمونه های دارای ژن babA۲

هلیکوباکتر پیلوری (۱۳ نمونه سرطان معده، ۱۸ نمونه زخم دوازدهه، ۱۵ نمونه زخم معده و ۳۶ نمونه گاستریت) با استفاده از روش PCR بررسی شد (شکل ۲) به طور کلی از بین ۸۲ نمونه کلینیکی، ژن babA۲ در ۵۶ نمونه (٪۶۸/۳) مشخص شد (جدول ۱). فراوانی ژن babA۲ برحسب وضعیت بالینی بیماران در جدول۱ آمده است. ژن babA۲ در بیماران مبتلا به سرطان معده فراوانی بیشتری داشت. حضور این ژن در بیماران مبتلا به زخم دوازدهه، زخم معده و گاستریت فراونی تقریباً مشابهی داشت. ارتباط حضور ژن babA۲ با وضعیت بالینی بیماران مورد بررسی قرار گرفت که ارتباط معنی داری بین این ژنوتیپ و سرطان معده، زخم معده، زخم دوازدهه و گاستریت مشاهده نشد($p>۰/۰۵$).

بحث:

در اوایل دهه ۹۰ آنتی ژن گروه خونی فوکوزیله شده به عنوان گیرنده هلیکوباکتر پیلوری در سلول های اپی تلیال معده انسان شناسایی شد. بعدها آنتی ژن متصل شونده به این گیرنده blood group antigen-binding adhesion (BabA) نامیده شد.(۱۴)BabA یک پروتئین غشای خارجی با وزن ۷۸ کیلودالتون است.اگرچه دو الل BabA (babA۱, babA۲)شناسایی شده است ولی تنها الل babA۲ از نظر عملکردی فعال می‌باشد و می تواند به Le^b متصل شود. تنها تفاوت این دو در نبود یک توالی ۱۰ نوکلئوتیدی در آلل BabA۱ است که این توالی، سیگنال پپتید را کد می‌کند بنابراین آلل BabA۱ همیشه خاموش است. (۱۵و۱۶)

این مطالعه به بررسی حضور ژن babA۲ پرداخته و ارزش ردیابی این ژن را به منظور غربالگری بیماران در معرض خطر بالا تعیین کرده است. در صورت حضور ژن babA۲ محصول PCR با اندازه ۸۳۲ جفت باز تکثیر می‌شد. بررسی حضور ژن babA۲ در بیماران مورد بررسی نشان داد که

Archive of SID

.ir

۶۸/۳ درصد از افراد دچار بیماری های گوارشی ، سویه BabA۲ مثبت را حمل می‌کنند. هم چنین حضور این ژن هیچ گونه ارتباطی با زخم معده، زخم دوازدهه، گاستریت و سرطان معده ندارد.

پانیگوا[1] و همکاران در مکزیک فراوانی ژن babA۲ را ۲۱/۷٪ (۱۷)،کنسا[2] و همکاران در ژاپن ۹۶/۸٪ (۱۸)،گاتی[3] و همکاران در برزیل ۴۴ ٪ (۱۹)؛ پودزورسکی[4] و همکاران در ایالت متحده ۳۶٪ (۱۲) ، اولیسترو[5] و همکاران در پرتغال ۱۷/۴ ٪ گزارش کردند.(۲۰)

اولیویرا[6] و همکاران در برزیل فراوانی ژن babA۲ را در بیماران مبتلا به گاستریت ۳۱/۵۷٪، زخم دوازدهه۵۳/۷۵٪ و سرطان معده۵۵/۷۷٪ گزارش و عنوان کردند که حضور این ژن با سرطان معده و زخم دوازدهه ارتباط دارد.(۲۱)

جرارد[7] و همکاران در آلمان فراوانی کلی این ژن را ۷۱/۹ درصد اعلام و نشان دادند که حضور این ژن با زخم دوازدهه، زخم معده و گاستریت ارتباط ندارد ولی با سرطان معده و زخم دوازدهه همراهی دارد.(۲۲)

در مطالعه صورت گرفته توسط ارزین[8] و همکاران در ترکیه فراوانی این ژن در نمونه های مربوط به سرطان معده، زخم دوازدهه و گاستریت به ترتیب ۸۷/۹ ، ۴۶/۴ و ۲۳/۳ درصد بدست آمد و ارتباط این ژن با سرطان معده نشان داده شد. (۲۳)

میزوشیما[9] و همکاران در ژاپن فراوانی کلی این ژن را ۸۴/۹٪ گزارش و نشان دادند که فراوانی این ژن در گاستریت، زخم معده ، زخم دوازدهه و سرطان معده تقریباً یکسان است و هیچ گونه ارتباطی بین حضور این ژن با نوع بیماری کلینیکی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری نشان داده نشد.(۲۴) قاسمیان صفائی و همکاران در طی یک مطالعه در اصفهان در سال ۱۳۸۷ فراوانی ژن babA۲ را در ۸۱ بیمار گوارشی (۴۴ نمونه گاستریت، ۲۷ نمونه زخم دوازدهه و ۱۰ نمونه سرطان معده) بررسی و فراوانی این ژنوتیپ در هلیکوباکترپیلوری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به گاستریت، زخم دوازدهه و سرطان معده به ترتیب ۶۸/۲ ، ۷۴/۱ و ۸۰ درصد مشاهده شد. فراوانی کلی ژن babA۲ در این مطالعه ۷۱/۶ درصد بود(۲۵) که تقریباً مشابه فراوانی این ژنوتیپ در مطالعه حاضر (۶۸/۳ درصد) است که علت آن می‌تواند فراوانی یکسان ژن babA۲ در هلیکوباکتر پیلوری های جدا شده از بیماران ایرانی باشد. در مطالعه اسحاقی و همکاران ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ babA۲ و گاستریت و زخم دوازدهه مشاهده نشد ولی ارتباط این ژنوتیپ با سرطان معده مشاهده شد در صورتی که در مطالعه حاضر ارتباط معنی داری بین حضور ژن babA۲ با سرطان معده و سایر بیماری های کلینیکی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری وجود نداشت.

هر چند در تعداد زیادی از مقالات ارتباط ژن babA۲ با بیماری های مختلف ناشی از هلیکوباکتر پیلوری به خصوص سرطان معده نشان داده شده است (۲۱ و ۲۵-۲۳) ولی در این مطالعه و پاره ای از مطالعات دیگر (۱۲و۱۷و۲۴) بین حضور این ژن و نوع بیماری گوارشی ارتباط معنی داری مشاهده نشد. بنابراین با توجه به تناقض موجود در مطالعات مختلف بحث در مورد استفاده از ژن babA۲ به عنوان نشانگری جهت شناسایی بیماران آلوده به سویه های پرخطر هلیکوباکتر پیلوری باید با دقت بیشتری انجام گیرد.

مطالعات بیشتر به منظور دستیابی به فراوانی دقیق تر این ژن در هلیکوباکتر پیلوری های جدا شده از بیماران ایرانی و تعیین دقیق تر ارتباط این ژن با نوع بیماری گوارشی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری در چند منطقه جغرافیایی و قومیت های مختلف داخل کشور توصیه می‌شود.

1.Paniagua
2.Con SA
3.Gatti
4.Podzorski
5.Oleastro
6.Oliveira
7.Gerhard
8.Erzin
9.Mizushima

REFERENCES

1. Sanders MK , Peura DA. Helicobacter pylori Associated Diseases. *Curr Gastroenterol Rep* 2002;4:448-454.
2. Bittencourt PFS, Rocha GA, Penna FJ, Queiroz DMM. Gastroduodenal peptic ulcer and Helicobacter pylori infection in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 2006;82:325-34.
3. Hessey SJ, Spencer J, Wyatt JI, Sobala G, Rathbone BG, Axon AT, et al. Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter*-associated chronic gastritis. *Gut* 1990;31:134–8.
4. Covacci A, Telfod JL, Parsonnet GJ, Rappuoli R. Helicobacter pylori virulence and genetic geography. *Science* 1999;284:1328-33.
5. Logan RP. Adherence of Helicobacter pylori. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10:3–15.
6. Hennig EE, Allen JM, Cover TL. Multiple chromosomal loci for the *babA* gene in *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2006;74:3046-51.
7. Boren T, Falk F, Roth KA, Larson G, Normark S. Attachment of Helicobacter pylori to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. *Science* 1993;1892–5.
8. Thoerson AC, Hamlet A, Celik J, Bystrom M, Nystrom S, Olbe Lars. et al. Difference in surface exposed antigen between helicobacter pylori strains isolates from duodenal ulcer patients and from asymptomatic subjects. *J Clin Microbiol* 2000; 33:3436-41.
9. Segal E, Falkow DS, Tompkinz LS. Helicobacter pylori attachment to the gastric cells induced cytoskeletal rearrangement and tyrosin phosphorilation of host cell protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:1246-59.

Archive of SID

ID.ir

10. Yang Bai, Ya- Li Zhang, Ye Chen, Jian- Feng Jin, Zhao-Shan Z, Dian-Yuan Z. Cloning and expression and immunogenicity of helicobacter pylori BabA2 gene. *World J Gasteroenterol* 2004;10:2560-2.
11. Sheu BS, Sheu SM, Yang HB, Huang AH, Wu JJ. Host gastric Lewis expression determines the bacterial density of Helicobacter pylori in *BabA2* genopositive infection. *Gut* 2003;52: 927-32.
12. Podzorski RP, Podzorski DS, Wuerth A, Tolia V. Analysis of the vacA, cagA, cagE, iceA, and *BabA2* genes in Helicobacter pylori from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003;46:83-8.
13. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Borén T, Rad R, Schepp W, et al. Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:12778–83.
14. Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET, et al. Helicobacter pylori adhesinbinding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998;279:373–7.
15. Aspholm M, Kalia A, Ruhl S, Schedin S, Arnqvist A, Sjöström R. Helicobacter pylori adhesion to carbohydrates. *Meth Enzymol* 2006;417;293-339.
16. Aspholm-Hurtig M, Dailide G, Lahmann M, Kaalia A, Ilver D, Roche N, et al. Functional adaptation of BabA, the H. pylori ABO blood group antigen binding adhesin. *Science* 2004;305:519-22.
17. Paniagua GL, Monroy E, Rodríguez R, Arroniz S, Rodríguez C, Cortés JL, et al. Frequency of vacA, cagA and BabA2 virulence markers in Helicobacter pylori strains isolated from Mexican patients with chronic gastritis. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2009;8:14.
18. Con SA, Takeuchi H, Nishioka M, Morimoto N, Sugiura T, Yasuda N, et al. Clinical relevance of *Helicobacter pylori* BabA2 and BabA2/*B* in Costa Rica and Japan. *World J Gastroenterol* 2010;16:474-8.
19. Gatti LL, Fagundes EK, Leite KR, Bastos EL, Vicentini LR, Silva LC, et al. cagA, vacA alelles and *BabA2* genotypes of Helicobacter pylori associated with gastric disease in Brazilian adult patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005;51:231-5.
20. Oleastro M, Gerhard M, Lopes AI, Ramalho P, Cabral J, Guerreiro AS, et al. Helicobacter pylori virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:85-91.
21. Oliveira AG, Santos A, Guerra1 JB, Rocha1 GA, Rocha AM, Oliveira CA, et al. BabA2 and cagA-Positive Helicobacter pylori Strains Are Associated with Duodenal Ulcer and Gastric Carcinoma in Brazil. *J Clin Microbiol* 2003;41:3964-6.
22. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Boren T, Rad R, Schepp W,et al. Clincal relevance of the helicobacter pylori gene for blood group antigen binding adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:12778-83.
23. Erzin Y, Koksal V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA, *BabA2* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* 2006;11:574-80.
24. Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y, Ishizuka J, Kato M, Asaka M. Clinical relevance of the *BabA2* genotype of Helicobacter pylori in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001;39:2463-5.
25. Ghasemian Safaei H, Havaei A, Tavakoli H, Eshaghi M, Navabakbar F, Salehi R. Relation of bab A2 genotype of Helicobacter pylori infection with chronic active gastritis, duodenal ulcer and non-cardia active gastritis in Alzahra hospital Isfahan. *JJM* 2010;3:93-8.

Archive of SID

.ir