



بررسی فراوانی ژن های بیماری زای vacA و ureA در جدایه های

هلیکوباکتر پیلوری از بیماران مبتلا به زخم معده

علی اکبر جنت آبادی^{۱*}، مهناز دیواندری^۲، محسن محمدی^۲، میترا مهرخواه^۲

۱. استادیار، گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار، سبزوار، ایران.

۲. کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

چکیده

نوع مقاله: پژوهشی اصیل

مقدمه: عفونت ناشی از هلیکوباکتر پیلوری در بیش از نیمی از جمعیت انسانی وجود دارد. هلیکوباکتر پیلوری یکی از عوامل اصلی ایجاد زخم معده می باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط شواهد مولکولی وجود هلیکوباکتر پیلوری در نمونه های بیوپسی معده، بر اساس تجزیه و تحلیل ژن های سیتوتوکسین واکوئل کننده (vacA) و اوره A (ureA) با یاخته های بالینی و بافتی در بیماران مبتلا به زخم معده بوده است.

روش: در مجموع از ۹۵ بیمار (۵۴ زن و ۴۱ مرد) مبتلا به زخم معده در شهر سبزوار بیوپسی از بافت معده تهیه گردید و ژنوتیپ های vacA و ureA با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) بررسی شد. در این مطالعه از تست اوره آز سریع (RUT) نیز برای بررسی عفونت هلیکوباکتری استفاده شد.

یافته ها: از مجموع ۹۵ نمونه بیماران مبتلا به زخم معده، ۴۵/۳ درصد از نمونه ها آلوده به هلیکوباکتر پیلوری بودند. حضور ژن ureA در ۲۸/۴ درصد گزارش شده است. همچنین فراوانی ژن vacA ۳۴/۷ درصد گزارش شد. در این مطالعه تست اوره آز ۲۲/۱ درصد نمونه ها مثبت شد. **نتیجه گیری:** با توجه به آزمون کای اسکور انجام شده و آنالیز نتایج، ارتباط معناداری بین آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری و جنسیت مشاهده نشد.

کلیدواژه ها: هلیکوباکتر پیلوری، زخم معده، vacA، ureA، واکنش زنجیره ای پلیمرز، تست اوره آز سریع

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۲

*نویسنده مسئول: علی اکبر

جنت آبادی، استادیار گروه

زیست شناسی، واحد سبزوار، دانشگاه

آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

تلفن: ۰۹۱۵۳۱۸۹۹۵۷

پست الکترونیک:

Jannatabadi@iaus.ac.ir



مقدمه

عفونت هلیکوباکتر پیلوری با علائم سوء هاضمه، زخم معده، سرطان معده و لنفوم بافت لنفاوی مرتبط با مخاط همراه است و در بیشتر مناطق، مکانیسم اصلی انتقال از جمعیت انسانی وجود دارد و شیوع در اکثر کشورهای در حال توسعه همچنان بالاست و به طور کلی به وضعیت اجتماعی-اقتصادی و سطح بهداشت مرتبط است (۱ و ۲). عفونت هلیکوباکتر پیلوری یکی از شایع‌ترین محرک‌های سرطان معده بوده و سرطان معده عامل اصلی مرگ و میر در مشکلات گوارشی است. مطالعات نشان داده است که در ۵۰ تا ۸۰ درصد بیماران مبتلا به زخم معده که باکتری هلیکوباکتر پیلوری در آنها کلونیزه شده است، خطر ابتلا به سرطان با احتمال بالایی وجود دارد. به‌طوری که تقریباً ۱۰ درصد بیماران مبتلا به گاستریت آتروفیک مزمن در طی ۱۵ سال دچار سرطان معده می‌شوند که چهارمین بدخیمی شایع در جهان و دومین عامل مرگ و میر در ایران است (۳ و ۷). کشف هلیکوباکتر پیلوری به عنوان عامل بیماری زخم معده در سال ۱۹۸۳ منجر به تغییر این بیماری سخت و ناتوان‌کننده به یک بیماری قابل درمان با آنتی بیوتیک شد. تشخیص مناسب و درمان موثر زخم معده ممکن است از پیشرفت سرطان معده جلوگیری کند (۱). در صورت عدم درمان، عفونت توسط هلیکوباکتر پیلوری برای چندین دهه باقی می‌ماند. باین حال، اکثر مبتلایان بدون علامت باقی می‌مانند و هرگز به بیماری یا علائم آشکار مبتلا نمی‌شوند. در ۲۰-۱۰ درصد از ناقلین، بیماری گوارشی از جمله زخم معده یا اثنی عشر، گاستریت مزمن نوع B و آتروفیک ایجاد می‌شود که پیش شرط سرطان معده است (۴). در سال ۱۹۹۴، آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) براساس مطالعات اپیدمیولوژیک و مداخله‌ای در انسان، هلیکوباکتر پیلوری را سرطان‌زای کلاس I (قطعی) اعلام کرد، و متقاعدشد که این عفونت باکتریایی در واقع نقش کلیدی در شروع فرآیند نئوپلاستیک در معده دارد

(۵). به‌طور کلی، سرطان معده به عنوان پیامد یک فرآیند چند عاملی، شامل پاسخ میزبان، حدت باکتریایی، رژیم غذایی و سایر عوامل محیطی می‌باشد. ریشه‌کنی هلیکوباکتر پیلوری با واسطه آنتی‌بیوتیک به‌طور قابل توجهی بروز ضایعات پیش سرطانی را کاهش می‌دهد، بنابراین نقش عفونت هلیکوباکتر پیلوری را در مراحل اولیه سرطان معده برجسته می‌کند. پاسخ التهابی که بر اثر عفونت هلیکوباکتر پیلوری ایجاد می‌شود، مستقیماً از طریق تأثیر انواع فاکتورهای حدت باکتریایی بر روی سلول‌های اپیتلیال معده میزبان انجام می‌شود. هلیکوباکتر پیلوری از نظر ژنتیکی متنوع است و چندین عامل حدت به سویه‌های بدخیم تر نسبت داده شده است. وجود تاژک که به باکتری اجازه می‌دهد تا حرکت کند و محیط مناسب تری برای زندگی در معده پیدا کند و توانایی تولید آمونیاک از اوره با استفاده از آنزیم اوره آز دو قابلیت مشخص هلیکوباکتر پیلوری برای زنده ماندن در محیط سخت معده می‌باشد. همچنین بیماری‌زایی هلیکوباکتر پیلوری به سیتوتوکسین A واکوئل‌کننده (vacA)، جزیره بیماری‌زایی cag، ژن A مرتبط با سیتوتوکسین (cagA)، پروتئین‌های غشای بیرونی پتیدوگلیکان (BabA, SabA, OipA) و ۷-گلوتامیل ترانس پپتیداز (GGT) نسبت داده می‌شود (۶ و ۷). هدف از این مطالعه با توجه به اهمیت بالای این باکتری و عفونت ناشی از آن در شهرستان سبزوار، بررسی فراوانی ژن‌های vacA و ureA در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران دچار زخم معده با استفاده از روش PCR و ارتباط حضور ژن‌های vacA و ureA با جنسیت افراد است.

روش

نمونه‌گیری:

این مطالعه بر روی ۹۵ نفر از افراد بیمار شامل ۵۴ زن و ۴۱ مرد (رنج سنی ۷۰-۱۵ سال) مراجعه کننده به بخش اندوسکوپی بیمارستان واسعی سبزوار در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ با کسب رضایت‌نامه آگاهانه انجام شد. این بیماران پس از معاینه توسط پزشک مورد آندوسکوپی قرار گرفتند



تست اوره آز:

این محیط شامل ۲۰g اوره، ۰/۱ گرم مخمر، ۰/۰۹۵ گرم دی سدیم هیدروژن فسفات (Na_2HPO_4)، ۰/۰۹۱ گرم پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4) و ۰/۰۱ گرم فنول رد بود که در ۸۰۰ سی سی آب مقطر حل و اسیدیته آن با استفاده از اسید کلریدریک ($\text{PH}=7$) تنظیم شد. سپس حجم محلول به یک لیتر رسانده شد و با استفاده از کلنی‌های خالص هلیکوباکتریلوری کنترل گردید (نمونه بیوپسی اگر حداکثر ۴ ساعت بعد از انتقال به داخل محیط اوره آز سریع باعث تغییر رنگ از زرد به ارغوانی در مدت یک ساعت شود به عنوان نمونه اوره آز مثبت تلقی می‌گردد).

استخراج DNA و آزمون PCR جهت شناسایی ژن‌های *urea* و *VacA*

استخراج DNA ژنومیک از بیوپسی از ناحیه آنتروم معدۀ با استفاده از پروتکل کیت استخراج (شرکت سینا ژن) صورت گرفت. پرایمرهای مورد استفاده برای انجام PCR شامل یک جفت پرایمر اختصاصی ژن *ureA* و *vacA* می‌باشد که این پرایمرها طوری طراحی شدند که قطعاتی به طول ۴۱۱ و ۱۳۶ جفت باز را تکثیر می‌نمایند، طراحی پرایمرها بر اساس نرم افزار oligo 7 primer/gunrunner انجام شد که از شرکت سینا ژن خریداری گردید (جدول ۱).

و افرادی که سابقه‌ی مصرف داروهای آنتی‌بیوتیکی جهت درمان عفونت هلیکوباکتریلوری در مدت دو هفته گذشته را داشتند از مطالعه حذف شدند. یک نمونه از بیوپسی از ناحیه آنتروم معدۀ هر بیمار به وسیله پنس دستگاهی آندوسکوپ توسط پزشک متخصص گرفته شد و نمونه‌ها بعد از اخذ در محیط استوارت (ساخت شرکت مرک آلمان) به آزمایشگاه دانشگاه منتقل گردید. سپس نمونه‌های اخذ شده هموژن گردید، هر نمونه بیوپسی پس از هموژنیزاسیون به سه قسمت برای کشت، تست اوره آز و واکنش زنجیره پلی‌مراز تقسیم گردید.

کشت از نمونه‌ها:

بخشی از نمونه یکنواخت‌شده به محیط کمپیلوبلا دآگار (Merck) حاوی ۵ mg/L ونکومایسین، ۵ mg/L تری‌متوپریم، ۱۰ mg/L آمفوترپ سین B، ۲۵۰۰ u/L پلی میکسین B، ۱ در صد نشاسته و ۵ در صد خون استریل دفیبرینه تلقیح شد. سپس پلیت‌ها به مدت هفت روز در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد و شرایط میکروآتروفیل (با استفاده از گاز پک نوع C ساخت شرکت آلمان برقرار شد) قرار گرفتند. پس از پایان انکوباسیون کلنی‌های به دست آمده که حاوی باسیل‌های گرم منفی، کاتالاز، اکسیداز و اوره آز مثبت بودند به عنوان کلنی‌های هلیکوباکتریلوری تشخیص داده شدند. سپس کلنی‌های مورد نظر در آب مقطر استریل جمع‌آوری و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد جهت استخراج DNA و انجام کارهای مولکولی نگهداری شدند.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مربوط به ژن‌های *ureA* و *vacA*

پرایمر	توالی الگو نوکلئوتیدی پرایمرها	طول قطعه (bp)
VacA و UreA	5'-GATCTCGGTGGGTCTTTCC-3' Revers پرایمر	ژن vacA با طول باند ۱۳۶ جفت باز
	5'-TCTTTTACGGCCATTGTTC-3' Forward پرایمر	ژن ureA با طول باند ۴۱۱ جفت باز

دقیقه، مرحله گسترش (Extension) در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله گسترش نهایی (Final extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و مرحله نگهداری (Hold) در دمای ۱۲ درجه سانتی گراد تا زمان استخراج می باشد. تعداد تکرار سیکل ها روی ۴۰ بار تنظیم شد که این تکرار فقط برای مراحل Denaturation، Annealing و Extension صورت گرفت. پس از پایان مراحل PCR، محصول برای انجام عمل الکتروفورز استفاده شد.

الکتروفورز محصولات PCR:

محصولات واکنش PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد و با ولتاژ ۱۲۰ میلی آمپر به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفتند و ژل جهت مشاهده باندهای DNA به دستگاه ژل نگار (مدل کیمیا ژن) منتقل و بررسی شد (شکل ۱)

همچنین از سوش های هلیکوباکتر پیلوری ATCC43504 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. واکنش PCR در حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر حاوی ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده (هدف)، ۰/۵ میکرولیتر Taq DNA پلیمرز (دنا زیست)، ۳ میکرولیتر 10X loading buffer، ۰/۹ میکرولیتر Mgcl210Mm، ۰/۶ میکرولیتر dNTP10Mm، ۵ میکرولیتر از پرایمر forward 10 pm/μl (ژن پیشرو)، ۵ میکرولیتر از پرایمر revers 10 pm/μl، ۱۳ میکرولیتر آب دیونیزه در دستگاه ترموسایکلر (ماکروژن، کره جنوبی) تحت شرایط دمایی شامل: مرحله واسرشت اولیه (Initial denaturation) برای فعالسازی گرمایی در دمای ۹۴-۹۶ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه، مرحله واسرشت (Denaturation) در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، مرحله اتصال (Annealing) در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱

شکل ۱: ژل الکتروفورز محصول مربوط به باند ژن های *ureA* و *vacA* هلیکوباکتر پیلوری (الف) چاهک ۱ نمونه های حامل هلیکوباکتر پیلوری واجد ژن *vacA* و چاهک ۲ مربوط به سویه هلیکوباکتر پیلوری ATCC43504 به عنوان کنترل مثبت (ب) چاهک ۱ و ۲ حامل هلیکوباکتر پیلوری واجد ژن *ureA* و چاهک ۳ مربوط به سویه هلیکوباکتر پیلوری ATCC43504 به عنوان کنترل مثبت می باشد.





یافته‌ها

مقدار ($p\text{-value} = 0/97$) شد که طبق آن می‌توان نتیجه گرفت بین جنسیت افراد و حضور تست اوره از نظر آماری ارتباط معناداری وجود ندارد (جدول ۲). حساسیت تست اوره از در مطالعه حاضر ۵۰ درصد می‌باشد و لازم به ذکر است افراد مورد مطالعه در حین تحقیق داروی پنتوپرازول دریافت نکرده‌اند. از نمونه‌های مورد مطالعه به وسیله PCR در ۲۷ نمونه ژن *ureA* مشاهده شد. درصد حضور این ژن در نمونه‌ها ۲۸/۴ درصد بود. در ادامه نیز بر اساس آزمون کای اسکور جهت ارتباط حضور ژن *ureA* و جنسیت افراد، مقدار $p\text{-value} = 0/53$ به دست آمد که می‌توان نتیجه گرفت بین جنسیت افراد و حضور ژن *ureA* از نظر آماری ارتباط معناداری وجود ندارد (جدول ۲). بررسی حضور ژن *vacA* در نمونه‌ها نشان داد که ژن *vacA* در ۳۳ نمونه مطالعه حضور داشته‌است. درصد حضور ژن *vacA* در نمونه‌ها ۳۴/۷ درصد بود. همچنین بر اساس آزمون کای اسکور مقدار $p\text{-value}$ جهت مشخص شدن ارتباط بین حضور ژن *vacA* و جنسیت افراد عدد ۰/۷۴ به دست آمد که طبق آن می‌توان نتیجه گرفت بین جنسیت افراد و حضور ژن *vacA* از نظر آماری ارتباط معناداری وجود ندارد (جدول ۲).

مطالعه حاضر بر روی ۹۵ بیمار (۵۴ زن و ۴۱ مرد) مبتلا به زخم معده صورت گرفت. به منظور تشخیص ژن *vacA* با طول باند ۱۳۶ جفت باز و ژن *ureA* با طول باند ۴۱۱ جفت باز از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱) استفاده شد و نتایج حاصل با استفاده از نرم افزار 7 oligo primer/gunrunner و آزمون χ^2 آنالیز شد. به طور کلی یافته‌های حاصل از کشت نمونه‌ها مشخص نمود که از ۹۵ نمونه مورد آزمایش ۴۳ نمونه دارای کشت مثبت هلیکوباکتر پیلوری بودند و درصد فراوانی حضور هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های حاصل از معده ۴۵/۳ درصد بود. آزمون کای اسکور جهت مشخص شدن رابطه‌ی بین جنسیت افراد در نمونه‌های گرفته شده و حضور و عدم حضور هلیکوباکتر پیلوری انجام شد. بر اساس آزمون کای اسکور مقدار $p\text{-value} = 0/54$ به دست آمد، که می‌توان نتیجه گرفت بین جنسیت افراد و آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری از نظر آماری ارتباط معناداری وجود ندارد (جدول ۲). درصد تست اوره از مثبت در نمونه‌ها ۲۲/۱ درصد بود. جهت بررسی ارتباط بین مثبت و منفی شدن تست اوره از و جنسیت افراد؛ بر اساس آزمون کای اسکور

جدول ۳: جدول توافقی هلیکوباکتر پیلوری با تست اوره از، ژن *vacA* و ژن *urea*

p-value	ژن <i>vacA</i>			ژن <i>ureA</i>			تست اوره از			هلیکوباکتر پیلوری
	کل	عدم حضور	حضور	کل	عدم حضور	حضور	کل	منفی	مثبت	
۰/۰۰	۴۳	۱۰ (۲۳٪)	۳۳ (۷۷٪)	۴۳	۱۶ (۳۸٪)	۲۷ (۶۲٪)	۴۳	۲۲ (۵۲٪)	۲۱ (۴۸٪)	مثبت
	۵۲	۵۲ (۱۰۰٪)	۰ (۰٪)	۵۲	۵۲ (۱۰۰٪)	۰ (۰٪)	۵۲	۵۲ (۱۰۰٪)	۰ (۰٪)	منفی
	۹۵	۶۲	۳۳	۹۵	۶۸	۲۷	۹۵	۷۴	۲۱	کل



بحث

هلیکوباکتر پیلوری عامل اصلی گاستریت مزمن بوده و در بیماری‌زایی زخم و سرطان معده نقش مهمی دارد (۸). از آنجا که بیش از نیمی از مردم دنیا به این باکتری آلوده هستند، بنابراین، انسان به‌عنوان مخزن طبیعی هلیکوباکتر پیلوری محسوب می‌شود. با توجه به گسترش جهانی این عامل عفونی و خطرات ناشی از آن، تشخیص سریع و دقیق باکتری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱). ژن سیتوتوکسین واکوئل کننده (*vacA*)، سیتوتوکسین واکوئل کننده را کد می‌کند، توکسین تشکیل‌دهنده منفذ باعث واکوئل شدن پیشرونده و آسیب به اپیتلیوم معده می‌شود (۲). هر دو ژن *ureA* و *vacA* در ایجاد زخم معده نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲). در یک مطالعه Palframan و همکارانش در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که ژن بیماری‌زای *vacA* ایجادکننده یک توکسین کلیدی در آسیب بافتی می‌باشد و باعث آسیب به سلول‌های اپیتلیال معده و زخم معده می‌شود (۱۰). مطالعه حاضر با هدف شناسایی باکتری در نمونه‌های بیوپسی با استفاده از پرایمر طراحی‌شده برای ژن‌های *ureA* و *vacA* با روش مولکولی PCR و همچنین کشت و اوره آز سریع انجام گرفت. از ۹۵ نمونه مورد آزمایش ۴۳ نمونه دارای کشت مثبت هلیکوباکتر پیلوری بودند و درصد فراوانی حضور هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های حاصل از معده ۴۵/۳ درصد بود. در مطالعه انجام‌شده توسط Rafeey و همکاران که بر روی ۱۰۰ کودک زیر ۱۶ سال با علائم گاستریت و زخم معده صورت گرفت، ۶۰٪ بیماران از نظر عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بیوپسی مثبت بودند (۱۱). نتایج این پژوهش‌ها بسیار نزدیک به نتایج بدست آمده در مطالعه‌ی حال حاضر است. همچنین با استفاده از تست اوره آز سریع ۲۱ نمونه (۲۲،۱٪) تست اوره آز مثبت بودند. افراد مورد مطالعه داروی پنتوپرازول دریافت نمی‌کردند. در آزمایش Milani و همکاران به‌طور کلی، ۴۴۹ نمونه بیوپسی از بیماران جمع‌آوری شد. از تمام نمونه برداری‌ها، ۲۱۹ نمونه (۴۸،۸٪) نتایج مثبتی را در

تست اوره آز سریع نشان‌دادند (۱۳). طبق مطالعه Jeong و Gong و همکاران هشتاد و یک سویه هلیکوباکتر پیلوری از ۱۴۱ نمونه با نتایج RUT مثبت (۵۷/۴٪) جدایش (۱۴). نتایج بدست آمده با مطالعات حاضر همخوانی ندارد. تست سریع اوره آز (*RUT*) یک تست تشخیصی محبوب است، زیرا یک آزمایش سریع، ارزان و ساده است که وجود اوره آز را در مخاط معده یا روی آن تشخیص می‌دهد. استفاده از داروهای ضد میکروبی و مهارکننده‌های پمپ پروتون و همچنین وجود متابلازی روده ممکن است منجر به نتایج منفی کاذب شود (۱۵). بررسی حضور ژن *vacA* در نمونه‌ها نشان‌داد که ژن *vacA* در ۳۳ نمونه مورد مطالعه حضور داشته است. درصد حضور ژن *vacA* در نمونه‌ها ۳۴/۷ درصد بود. Essawi و همکاران در سال ۲۰۱۳ با مطالعه بر روی بیوپسی بیماران با روش PCR میزان حضور ژن *vacA* را ۴۰/۹ درصد گزارش دادند (۲). در بررسی Heidari و همکاران در سال ۲۰۱۹ میزان حضور ژن *vacA* ۴۰ درصد گزارش شد (۱۶). در سال ۲۰۰۲ اسمیت و همکارانش در نیجریه فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف را در بیماران نیجریه‌ای مبتلا به زخم دوازدهه و التهاب معده را تعیین کردند. در این مطالعه ۴۱ بیمار مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری بررسی شدند که ابتدا از نمونه‌ها استخراج DNA صورت گرفت و سپس با استفاده از PCR ژنوتیپ‌های آن بررسی شد که ژنوتیپ ۳/۲۶ *vacA* درصد گزارش شد (۱۷)، که با درصد بدست آمده در مطالعه ما همخوانی دارد. از نمونه‌های مورد مطالعه به‌وسیله PCR در ۲۷ نمونه ژن *ureA* مشاهده شد. درصد حضور این ژن در نمونه‌ها ۲۸/۴ درصد بود. Amizadeh و همکاران در مطالعه‌ی خود در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که در ۲۶ درصد از نمونه‌های مورد بررسی ژن *ureA* مشاهده شده است (۱۸)، که این تحقیق نیز با مطالعات ما همخوانی دارد.



نتیجه‌گیری

ارتباط معناداری بین آلودگی به هلیکوباکتریلوری و حضور ژن‌ها با جنسیت مشاهده‌نشده، و هر دو جنس تقریباً به میزان برابر با هلیکوباکتریلوری آلوده بودند.

تشکر و قدردانی

از استادان ارجمند و همکاران عزیز که ما را در اجرای این پروژه یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌نماییم.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع ندارند.

ملاحظات اخلاقی و کد اخلاق

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد به شماره و کد اخلاق (IR.IAU.S.REC.1401.004) مصوب شورای تحصیلات تکمیلی و شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار در سال ۱۴۰۰ می‌باشد.

References:

- Hooi JK, Lai WY, Ng WK, Suen MM, Underwood FE, Tanyingoh D, Malfertheiner P, Graham DY, Wong VW, Wu JC, Chan FK. Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*. 2017 Aug 1;153(2):420-9.
- Essawi T, Hammoudeh W, Sabri I, Sweidan W, Farraj MA. Determination of *Helicobacter pylori* virulence genes in gastric biopsies by PCR. *International Scholarly Research Notices*. 2013;2013.
- Sakitani K, Nishizawa T, Arita M, Yoshida S, Kataoka Y, Ohki D, Yamashita H, Isomura Y, Toyoshima A, Watanabe H, Iizuka T. Early detection of gastric cancer after *Helicobacter pylori* eradication due to endoscopic surveillance. *Helicobacter*. 2018 Aug;23(4):e12503.
- Klaamas K. Humoral Immune Response to *Helicobacter Pylori*: A Study of Host-dependent and Microbial Factors. Tartu University Press; 2003.
- Ali M, Khan AA, Tiwari SK, Ahmed N, Rao LV, Habibullah CM. Association between *cag*-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. *World journal of gastroenterology*. 2005 Nov 11;11(43):6815.
- Díaz P, Valenzuela Valderrama M, Bravo J, Quest AF. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: adaptive cellular mechanisms involved in disease progression. *Frontiers in microbiology*. 2018 Jan 22;9:5.
- Hosseini E, Poursina F, Van de Wiele T, Safaei HG, Adibi P. *Helicobacter pylori* in Iran: A systematic review on the association of genotypes and gastroduodenal diseases. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. 2012 Mar;17(3):280.
- Zhou L, Sung JJ, Lin S, Jin Z, Ding S, Huang X, Xia Z, Guo H, Liu J, Chao W. A five-year follow-up study on the pathological changes of gastric mucosa after *H. pylori* eradication. *Chinese medical journal*. 2003 Jan 1;116(01):11-4.
- Celli JP, Turner BS, Afdhal NH, Keates S, Ghiran I, Kelly CP, Ewoldt RH, McKinley GH, So P, Erramilli S, Bansil R. *Helicobacter pylori* moves through mucus by reducing mucin viscoelasticity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009 Aug 25;106(34):14321-6.
- Palframan SL, Kwok T, Gabriel K. Vacuolating cytotoxin A (*VacA*), a key toxin for *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2012 Jul 12;2:92.
- Rafeey M, Abdinia B. 130 Comparison of invasive with noninvasive diagnostic tests of *Helicobacter pylori* in children. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2005 Jun 30;7(۲).
- Özçay F, Koçak N, Temizel IS, Demir H, Özen H, Yüce A, Gürakan F. *Helicobacter pylori* infection in Turkish children: comparison of diagnostic tests, evaluation of eradication rate, and changes in symptoms after eradication. *Helicobacter*. 2004 Jun;9(3):242-8.



13. Milani M, Moaddab Y, Sharifi Y. One piece biopsy for both rapid urease test and cultivation of *Helicobacter pylori*. *Journal of microbiological methods*. 2019 Sep 1;164:105674.
14. Gong EJ, Ahn JY, Jung DK, Lee SM, Pih GY, Kim GH, Na HK, Lee JH, Jung HY, Kim JM. Isolation of *Helicobacter pylori* using leftover tissue in the rapid urease test kit. *Helicobacter*. 2020 Oct;25(5):e12733.
15. Uotani T, Graham DY. Diagnosis of *Helicobacter pylori* using the rapid urease test. *Annals of translational medicine*. 2015 Jan;3.(۷)
16. Heidari K, Kaboosi H, Jamali A, Ghaemi EA, Peyravii Ghadikolaii F. Prevalence of pathogenic genes CagA and VacA of *helicobacter pylori* isolated in patients with digestive disorders. *Iranian Journal of Medical Microbiology*. 2019 May 10;13(1):80-8.
17. Smith SI, Kirsch C, Oyediji KS, Arigbabu AO, Coker AO, Bayerdöffer E, Miehle S. Prevalence of *Helicobacter pylori* vacA, cagA and iceA genotypes in Nigerian patients with duodenal ulcer disease. *Journal of medical microbiology*. 2002 Oct 1;51(10):851-4.
18. Amizadeh M, Shamsadini A, Arabzadeh A, Jazayeri S. Association of cagA positive *Helicobacter pylori* infection and laryngeal squamous cell carcinoma: a PCR approach. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*. 2015 Mar;67(1):51-5.



Prevalence of Pathogenic Genes *ureA* and *vacA* of *Helicobacter pylori* Isolated in Patients with gastric ulcer

Aliakbar Jannatabadi^{*1}, Mahnaz Divandari², Mohsen Mohamadi², Mitra Mehrkhah²

1- Assistant Professor, Department of Biology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

2- Msc, Department of biology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

Type of Article: Original Research

Received: 2023/01/18

Accepted: 2024/09/23

*Corresponding Author:

Aliakbar Jannatabadi:

Assistant Professor,
Department of Biology,
Sabzevar Branch, Islamic
Azad University, Sabzevar,
Iran

TEL: 09153189957

Email:

(jannatabadi@iaus.ac.ir)

Abstract

Introduction: *Helicobacter pylori* infection occurs in more than half of the human population. *Helicobacter pylori* is one of the main causes of gastric ulcers. The aim of the present study was to correlate the molecular evidence of the presence of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy samples, based on the analysis of vacuolating toxin (*vacA*) and urease A (*ureA*) genes, with the clinical and histological findings in patients with *H. pylori*-associated gastric ulcer.

Methods: A total of 95 patients (54 women and 41 men) with gastric ulcer from Sabzevar city were included in the study. Gastric tissue biopsies were collected, and the *vacA* and *ureA* genotypes were investigated by polymerase chain reaction (PCR). In this study, the rapid urease test (RUT) was also used to check *Helicobacter* infection.

Results: Out of a total of 95 gastric ulcer samples, 45.3% were found to be infected with *Helicobacter pylori*. The presence of the *ureA* gene was reported in 28.4% of the cases, while the frequency of the *vacA* gene was 34.7%. In this study, the urease test was positive in 22.1% of the samples.

Conclusion: Based on the chi-square test and data analysis, no significant relationship was observed between *Helicobacter* infection and the presence of genes in relation to gender. However, there was a significant relationship between the presence of the *vacA* and *ureA* genes and *Helicobacter pylori* infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, gastric ulcers, *vacA*, *ureA*, PCR, RUT

► Please cite this article as: Jannatabadi A, Divandari M, Mohamadi M, Mehrkhah M. Prevalence of Pathogenic Genes *ureA* and *vacA* of *Helicobacter pylori* Isolated in Patients with gastric ulcer. J Neyshabur Univ Med Sci 2022;10(4):10-18.