

Frequency of babA2 Genotype in *Helicobacter pylori* from Patient with Gastroduodenal Diseases in Firoozgar Hospital in Tehran

Mohammad Hasan Shirazi¹, Zahra pakbaz², Masoumeh Douraghi³, Mohammad Reza Pourmand¹, Hossein Ajdarkosh⁴, Amir Aliramezani²

¹ Associate Professor, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Researcher, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Assistant Professor, Gastrointestinal and Liver Disease Research Center, Firoozgar Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background:

Blood group antigen binding adhesin (babA2), is essential for attachment of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) to the epithelial cell layer and is the most important adhesin of *H. pylori*. The prevalence rate of the babA2 gene varies in different geographic areas. The aim of this study is to determine the frequency of the babA2 gene in patients with different clinical outcomes.

Materials and Methods:

We obtained two gastric biopsy specimens from each patient who suffered from gastrointestinal disease. Rapid urease test (RUT) was performed using one biopsy and the remaining biopsy was delivered to the laboratory for DNA extraction. Prevalence of the babA2 gene was determined using gene specific primers.

Results:

A total of 56 strains (68.3%) of *H. pylori* were babA2 positive. The prevalence of babA2 in gastric cancer patients (84.6%) was higher than seen with gastric ulcer (66.7%), duodenal ulcer (61%), and gastric patients (66.7%). There was no correlation between the babA2 genotype and clinical outcomes.

Conclusion:

We found that babA2 gene was more prevalent in gastric cancer but no correlation was demonstrated. However, previous studies have demonstrated a correlation of babA2 with severe *H. pylori*-associated diseases such as duodenal ulcers and gastric cancer. This discrepancy may be related in part to geographic diversity or sample size.

Keywords: *Helicobacter pylori*; babA2; Gastrointestinal disease

Please cite this paper as:

Shirazi MH, pakbaz Z, Douraghi M, Pourmand MR, Azhdarkosh H, Aliramezani A. Frequency of babA2 genotype in *Helicobacter pylori* from Patient with Gastroduodenal Diseases in Firoozgar hospital Tehran. *Govaresh* 2012;17:78-83.

Corresponding Author:

Mohammad Hasan Shirazi, MD

Division of Microbiology, Department of Pathobiology, Institute of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Telefax : + 98 21 88953021

E-mail: mhshirazi@tums.ac.ir

Received : 29 Jan. 2012

Edited : 03 Apr. 2012

Accepted : 04 Apr. 2012

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

محمد حسن شیرازی^۱، زهرا پاکباز^۲، معصومه دورقی^۲، محمدرضا پورمند^۱، حسین اژدرکش^۴، امیر علی رضانی^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 $babA_2$ در اتصال هلیکوباکتر پیلوری به سلول های اپی تلیال معده ضروری می باشد. 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 $babA_2$ با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن بررسی شد.

یافته ها:

از میان ۸۲ نمونه مورد بررسی، ۵۶ نمونه (۶۸/۳٪) از نظر ژن $babA_2$ مثبت بودند. فراوانی 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.

نتیجه گیری:

فراوانی ژن $babA_2$ 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 $babA_2$ با بعضی از بیماری های ناشی از هلیکوباکتر پیلوری مانند زخم دوازدهه و سرطان معده نشان داده شده است که این تناقض می تواند مرتبط با تنوع جغرافیایی یا تفاوت در حجم نمونه باشد.

کلید واژه: هلیکوباکتر پیلوری، ژن $babA_2$ ، بیماری های گوارشی.

گوارش/ دوره ۱۷، شماره ۲/ تابستان ۱۳۹۱/ ۸۳-۷۸

زمینه و هدف:

هلیکوباکتر پیلوری، باکتری گرم منفی، کند رشد و میکرواثر و فیل است که اولین بار در سال ۱۹۸۲ جدا سازی شد. (۱)، کلونیزه شدن این باکتری در

نویسنده مسئول: محمد حسن شیرازی

بخش میکروب شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

تلفن و نمابر: ۰۲۱-۸۸۹۵۳۰۲۱

پست الکترونیک: mhshirazi@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۱/۹

تاریخ اصلاح نهایی: ۹۱/۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱/۱۶

معده انسان منجر به ایجاد طیف متنوعی از بیماری ها از گاستریت ساده تا زخم معده، لنفوم و سرطان معده می شود. میزان شیوع این باکتری در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته به ترتیب ۹۰ و ۳۰-۵۰ درصد می باشد. (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 و ۴)

پروتئین $BabA_2$ 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 می شود. (۵) ژن کد کننده این پروتئین

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 $babA_2$ 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 $babA_2$ به ترتیب عبارتند از:

ژن $ureA$ (۱۲)

۳'-CCCAATGGTAAATTAGTT-5' $ureA$: پرایمر پیشرو

۳'-CTCCTTAATTGTTTTTAC-5' $ureA$: پرایمر پیرو

ژن $babA_2$ (۱۳)

۳'-AATCCAAAAAGGAGAAAAAGTATGAAA-5' $babA_2$: پرایمر پیشرو

۳'-TGTTAGTGATTCGGTGTAGGACA-5' $babA_2$: پرایمر پیرو

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 ۱۰ دقیقه.

با در نظر گرفتن دمای $annealing$ ۵۵ درجه سانتی گراد برای ژن $babA_2$ ، برنامه مورد استفاده برای $babA_2$ 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 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها:

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 $babA_2$ در ایزوله های کلینیکی ۸۲ بیمار گوارشی مبتلا به

($babA$) دارای دو آلل $babA_1$ و $babA_2$ است که آلل $babA_1$ فرم غیرفعال و آلل $babA_2$ فرم فعال این ژن می باشد. بنابراین ردیابی آلل $babA_2$ به وسیله PCR نشان دهنده فعالیت این ژن می باشد. (۶) مطالعات مختلف حضور ژن $babA_2$ 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 $babA_2$ نشان داده است. با این حال اغلب سویه های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده در کشورهای آسیایی دارای ژن $babA_2$ می باشند و این ژن در این کشورها با بیماری خاصی ارتباط داده نشده است. (۷-۱۱)

بنابراین به نظر می رسد حضور ژن $babA_2$ هلیکوباکتر پیلوری یک عامل مهم در تعامل باکتری و میزبان باشد که منجر به اختلالات گوارشی می گردد. 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 می رسد. بدین منظور در این مطالعه ژن $babA_2$ در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری بررسی شده است.

روش بررسی:

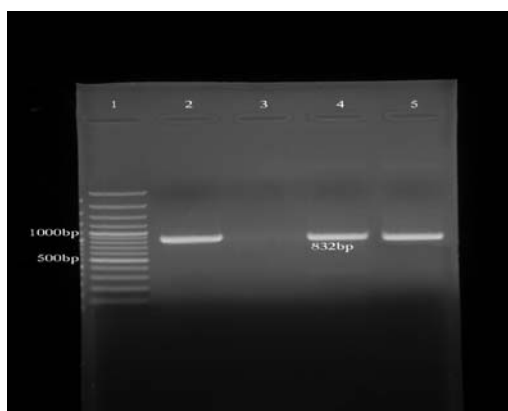
جمعیت مورد مطالعه: جمعیت مورد مطالعه ۱۲۰ بیمار با اختلال گوارشی مراجعه کننده به بخش اندوسکوپی بیمارستان فیروزگر تهران و بیماران بستری در بخش داخلی (گوارش) این بیمارستان بود که بنا بر تشخیص پزشک متخصص تحت اندوسکوپی قرار گرفتند. در بین ۸۲ بیمار آلوده به هلیکوباکتر پیلوری ۳۶ بیمار دچار گاستریت، ۱۳ بیمار 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 می شد به عنوان نمونه های مشکوک به آلودگی با هلیکوباکتر در نظر گرفته می شدند و جهت استخراج DNA به آزمایشگاه منتقل می شدند. 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 $babA_2$: 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 می کنند. نمونه هایی که دارای آزمون اوره از سریع مثبت و دارای باند اختصاصی برای ژن $ureA$ همزمان بودند

جدول ۱: فراوانی ژن babA۲ در نمونه های هلیکوباکتریلوری

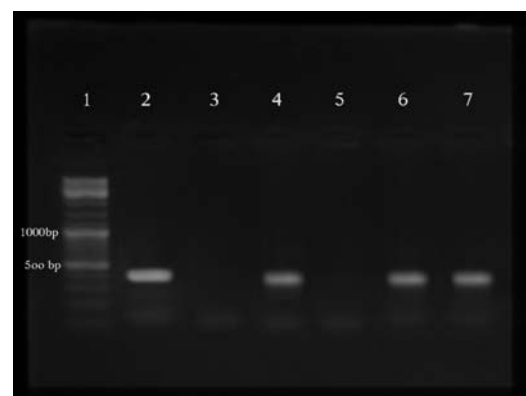
گاستریت	زخم دوازدهه	زخم معده	سرطان معده	وضعیت بالینی
				babA۲
۲۴(۰.۶۶/۷)	۱۱(۰.۶۱)	۱۰(۰.۶۶/۷)	۱۱(۰.۸۴/۶)	مثبت
۱۲(۰.۳۳/۳)	۷(۰.۳۹)	۵(۰.۳۳/۳)	۲(۰.۱۵/۴)	منفی
۳۶	۱۸	۱۵	۱۳	جمع



شکل ۲: تصویر الکتروفورز محصولات PCR ژن babA۲.

به ترتیب:

چاهک ۱: مارکر DNA، چاهک ۲: کنترل مثبت مربوط به سویه ۴۳۵۰۴ ATCC، چاهک ۳: کنترل منفی، چاهک ۴ و ۵: نمونه های دارای ژن babA۲



شکل ۱: تصویر الکتروفورز محصولات PCR ژن ureA.

به ترتیب:

چاهک ۱: مارکر DNA، چاهک ۲: کنترل مثبت مربوط به سویه ۴۳۵۰۴ ATCC، چاهک ۳: کنترل منفی، چاهک ۴ و ۵: نمونه های دارای ژن ureA، چاهک ۶ و ۷: نمونه فاقد ژن ureA.

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) (۱۴) نامیده شد. BabA یک پروتئین غشای خارجی با وزن ۷۸ کیلودالتون است. اگرچه دو آلل BabA (babA۱, babA۲) شناسایی شده است ولی تنها آلل babA۲ از نظر عملکردی فعال می باشد و می تواند به Le^b متصل شود. تفاوت این دو در نبود یک توالی ۱۰ نوکلئوتیدی در آلل BabA۱ است که این توالی، سیگنال پپتید را کد می کند بنابراین آلل BabA۱ همیشه خاموش است. (۱۶ و ۱۵)

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 می شد. بررسی حضور ژن babA۲ در بیماران مورد بررسی نشان داد که

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 (۰.۶۸/۳) مشخص شد (جدول ۱). فراوانی ژن babA۲ برحسب وضعیت بالینی بیماران در جدول ۱ 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 فراوانی 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 ($p > 0.05$).

بحث:

در اوایل دهه ۹۰ آنتی ژن گروه خونی فوکوزیله شده به عنوان گیرنده

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 babA₂ را در ۸۱ بیمار گوارشی (۴۴ نمونه گاستریت، ۲۷ نمونه زخم دوازدهه و ۱۰ نمونه سرطان معده) بررسی و فراوانی این ژنوتیپ در هلیکوباکتر پیلوری‌های 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 babA₂ 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 babA₂ در هلیکوباکتر پیلوری‌های جدا شده از بیماران ایرانی باشد. در مطالعه اسحاقی و همکاران ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ babA₂ 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 babA₂ با سرطان معده و سایر بیماری‌های کلینیکی ناشی از هلیکوباکتر پیلوری وجود نداشت.

هر چند در تعداد زیادی از مقالات ارتباط ژن babA₂ با بیماری‌های مختلف ناشی از هلیکوباکتر پیلوری به خصوص سرطان معده نشان داده شده است (۲۱ و ۲۳-۲۵) ولی در این مطالعه و پاره ای از مطالعات دیگر (۱۲ و ۱۷ و ۲۴) 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 babA₂ به عنوان نشانگری جهت شناسایی بیماران آلوده به سویه‌های پرخطر هلیکوباکتر پیلوری باید با دقت بیشتری انجام گیرد.

مطالعات بیشتر به منظور دستیابی به فراوانی دقیق تر این ژن در هلیکوباکتر پیلوری‌های 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 قومیت‌های مختلف داخل کشور توصیه می‌شود.

۶۸/۳ درصد از افراد دچار بیماری‌های گوارشی، سویه BabA₂ مثبت را حمل می‌کنند. هم چنین حضور این ژن هیچ گونه ارتباطی با زخم معده، زخم دوازدهه، گاستریت و سرطان معده ندارد.

پانیگوا^۱ و همکاران در مکزیک فراوانی ژن babA₂ را ۲۱/۷٪ (۱۷)، کنسآ^۲ و همکاران در ژاپن ۹۶/۸٪ (۱۸)، گاتی^۳ و همکاران در برزیل ۴۴٪ (۱۹)، پودزورسکی^۴ و همکاران در ایالت متحده ۳۶٪ (۱۲)، اولیستر^۵ و همکاران در پرتغال ۱۷/۴٪ گزارش کردند. (۲۰)

اولیویرا^۶ و همکاران در برزیل فراوانی ژن babA₂ را در بیماران مبتلا به گاستریت ۳۱/۵۷٪، زخم دوازدهه ۵۲/۷۵٪ و سرطان معده ۵۵/۷۷٪ گزارش و عنوان کردند که حضور این ژن با سرطان معده و زخم دوازدهه ارتباط دارد. (۲۱)

جرارد^۷ 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^۸ و همکاران در ترکیه فراوانی این ژن در نمونه‌های 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^۹ 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

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. Gastrointestinal 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, Telford 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, Tompkins LS. Helicobacter pylori attachment to the gastric cells induced cytoskeletal rearrangement and tyrosin phosphorylation of host cell protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:1246-59.

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 Gastroenterol* 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 adhesin binding 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 alleles 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, Guerra JB, Rocha 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. Clinical relevance of the helicobacter pylori gene for blood group antigen binding adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:12778-83.
23. Erzin Y, Koksall 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.