

İki Farklı Ülkeden (Türkiye ve Almanya) İzole Edilen *Helicobacter pylori* İzolatlarında *vacA* Allellerindeki Farklılık ve *cagA* Geni Pozitifliği

Differences of *vacA* Alleles and *cagA* Status of *Helicobacter pylori* Strains Isolated from Two Different Countries: Turkey and Germany

Fetiye KOLAYLI¹, Aynur KARADENİZLİ¹, Recep BİNGÖL¹,
Thomas SCHNEIDER², Manfred KIST³

¹ Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli.

¹ Kocaeli University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kocaeli, Turkey.

² Kinderklinik Der Klinikum Nord, Hamburg, Almanya.

² Kinderklinik Der Klinikum Nord, Hamburg, Germany.

³ Universitaets Klinikum Freiburg, Institut Für Med. Mikrobiologie Und Hygiene, Freiburg, Almanya.

³ Universitaets Klinikum Freiburg, Institut Für Med. Mikrobiologie Und Hygiene, Freiburg, Germany

Geliş Tarihi (Received): 14.12.2011 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 16.12.2011

ABSTRACT

Helicobacter pylori strains isolated from different regions of the world or human ethnic groups exhibit some differences at certain loci. The aim of this study was to determine allelic differences of *H. pylori* strains isolated from two countries, Turkey and Germany. A total of 72 *H. pylori* isolates, of which 37 strains were from Kocaeli province of Turkey and 35 strains from Hamburg, Germany were included in this study. *H. pylori* strains had been isolated from gastric biopsies of the patients. Genomic DNA was extracted with phenol-chloroform-isoamyl alcohol procedure and *vacA* alleles and *cagA* regions were identified by polymerase chain reaction (PCR) using specific primer sets. The rates of *cagA* positivity in Kocaeli and Hamburg strains were found as 75.7% (28/37) and 71.4% (25/35), respectively. *VacA* s1a allele was predominant both in Turkey and Germany isolates. There were five *vacA* mosaicism in Hamburg strains, including 14 for s1a/m1a (40%), nine for s1a/m2 (25.7%), eight for s2/m2 (17.1%), three for s1a/m1 (8.5%) and three for s1b/m2 (8.5%). There were four *vacA* mosaicism in Kocaeli strains, including 22 for s1a/m2 (59.4%), eight for s2/m2 (21.6%), four for s1a/m1a (10.8%), and three for s1a/m1 (8.1%). In this study, Hamburg and Kocaeli strains did not reveal significant differences regarding *cagA* status and *vacA* s1 allele. Whereas *vacA* s1a/m1a, *cagA*(+) type was the most frequent in Hamburg strains and s1a/m2, *cagA* (+) type in Kocaeli strains.

Key words: *Helicobacter pylori*; *vacA*; *cagA*; polymerase chain reaction.

İletişim (Correspondence): Doç. Dr. Fetiye Kolaylı, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 41380 Umuttepe, Kocaeli, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 262 303 7442, **E-posta (E-mail):** fetiy99@yahoo.com

Sayın Editör,

Dünya popülasyonunun yarısından fazlası kronik olarak, gastrik patojen olan *Helicobacter pylori* ile enfektir. Gelişmiş ülkelerde prevalans %25 olarak belirlenirken, gelişmekte olan ülkelerde %90'lara ulaşmaktadır. *H. pylori*, gastrit, peptik ülser hastalığı, mide kanseri ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfomasında majör patojen olarak kabul edilmektedir¹. *H. pylori* enfeksiyonunun klinik yansıması, hem bakteriyel hem de konağa ait faktörlerle ilişkili olup, bakteriye ait başlıca virülans faktörleri üreaz, flajel proteinleri, *Cag* patojenite adası tarafından kodlanan tip IV salgı sistemi, efektör *CagA* proteini, vakuol oluşturan sitotoksin (*VacA*), *BabA*, *SabA* adezinler ve diğerleridir. Bu faktörleri kodlayan genlerdeki allelik farklılıkların da gastrik hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmektedir¹. *vacA* geninin, amino ucu sinyal bölgesi (s) ve orta (middle-m) bölgesinin nükleotid dizilerine göre farklı allelik varyantları tanımlanmıştır. Genin s bölgesi s1a, s1b, s1c veya s2 allellerinden, m bölgesi ise m1a, m2a veya m2b allellerinden birini içerir. Farklı s ve m allelleri rekombinasyonla bir araya gelerek s1/m1, s1/m2, s2/m2 ve varlığı tartışmalı olan s2/m1 genotiplerini oluşturmaktadır²⁻⁵. Bu çalışmada, Türkiye (Kocaeli) ve Almanya (Hamburg)'dan izole edilen *H. pylori* izolatlarında *cagA* gen pozitifliği ve *vacA* geni allellerindeki farklılıkların araştırılması planlanmıştır.

Çalışmaya, Kocaeli ilinden 37 erişkin, Hamburg'dan ise 12 çocuk ve 23 erişkin hastadan izole edilen *H. pylori* suşları dahil edilmiştir. Bakteri DNA'ları fenol-kloroform-izoamil yöntemiyle izole edilmiş; *cagA* geni ve *vacA* geni allellerine ait özgül primer dizileri kullanılarak^{2,3,6} Perkin Elmer GenAmp 9600 cihazında (Roche, Almanya) 94°C'de iki dakika denatürasyonu takiben 94°C'de bir dakika, 53°C'de bir dakika, 72°C'de bir dakika (30 siklus) ve 72°C'de yedi dakika son uzama olacak şekilde polimeraz zincir reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Kocaeli izolatlarının %75.7 (28/37)'sinde, Hamburg izolatlarının ise %71.4 (25/35)'ünde *cagA* genotipi saptanmıştır. Kocaeli izolatlarında *vacA* s1 alleli dominant bulunmuş; olguların %78.4 (29/37)'ünde s1a, %21.6 (8/37)'sında ise s2 alt tipi tanımlanmıştır. Buna karşın Hamburg izolatlarının %82.9 (29/35)'unda *vacA* s1 alleli belirlenmiş; suşların %74.3 (26/35)'ü s1a alt tipi, %8.6 (3/35)'sı s1b alt tipi, %17.1 (6/35)'i ise s2 genotipinde saptanmıştır. Kocaeli izolatlarının %81.1 (30/37)'i *VacA* m2 alleli, Hamburg izolatlarının 17 (%48.3)'si m1, 18 (%51.4)'i m2 genotipindedir. *VacA* m1 allelinden 14'ü m1a alt tipinde belirlenmiştir. *vacA* geni rekombinasyonları değerlendirildiğinde; Kocaeli izolatlarında s1a/m2, Hamburg izolatlarında s1a/m1a genotipinin dominant olduğu belirlenmiştir [sırasıyla; 22/37 (%59.5) ve 14/35 (%40)]. Yirmi iki s1a/m2 alleleline sahip izolatın 19'u *cagA* geni pozitif, 14 s1a/m1a alleleline sahip izolatın hepsi *cagA* geni pozitif olarak tespit edilmiştir.

H. pylori'nin patojenite genleriyle ilgili çalışmalarda *cagA* geni ve *vacA* gen allellerinin, coğrafi bölgelere göre farklılık gösterdiği bildirilmektedir. Avrupa ve Kuzey Amerika'da *H. pylori* izolatlarının %60'ında *cagA* geni pozitif olarak belirlenirken, Kore, Japonya gibi Asya ülkelerinde *H. pylori* suşlarında %90'ın üzerinde *cagA* geni pozitifliği bildirilmiştir⁷⁻⁹. *cagA* pozitiflik prevalansındaki bu farklılıkların sebebi kesin olarak açıklanamamakla birlikte, bakterinin genetik heterojenitesi ve popülasyon farklılığı ile ilişkilendirilmektedir¹⁰. Ülkemizde yapılan çalışmalarda *cagA* geni pozitiflik oranlarını, Sarıbaşak ve arkadaşları¹¹ %78; Sarıbaşak ve arkadaşları¹² %58.6; Karaman ve arkadaşları¹³ ise %65.5 olarak bildirmektedir. Bu çalışmada saptanan %75.7'lik *cagA* geni pozitifliği, Sarıbaşak ve arkadaşlarının verilerine uyum göstermektedir¹¹. Çalışmamızda, *VacA* geni s1a alt tipi hem Kocaeli hem de Hamburg izolatlarında dominant olarak tanımlanmıştır. *VacA* s1a/m1a, *cagA* (+) tipi Alman izolatlarında daha sık görülürken; s1a/m2, *cagA* (+) tipi Türk izolatlarında daha sık belirlenmiştir. Aydın ve arkadaşları¹⁴, s1a genotipinin dominant olduğunu ve en sık s1a/m1 (%51) genotipinin görüldüğünü bildirirken; Erzin ve arkadaşları¹⁵ *vacA* s1/m2 (%48.4) ve s1/m1 (%40.7) genotiplerinin dominant olduğunu rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, *H. pylori*'nin patogenezinde rol oynayan *cagA* ve *vacA* genlerinin prevalansı ile ilgili epidemiyolojik çalışmalar, aynı ülkede dahi farklı sonuçlar elde edilebildiğini vurgulamaktadır. Bu çalışma, ülkemizde *H. pylori* genotip dağılımının belirlenmesine katkı sağlayacak bir veri olmasının yanında, farklı coğrafyada bulunan iki ülkenin izolatlarında *H. pylori* patojenite genlerinin prevalansı bakımından farklılık olmadığını da düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

1. Backert S, Clynne M. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2011; 16(Suppl 1): 19-25.
2. Atherton JC, Cao P, Peek RM Jr, et al. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. Association of specific *vacA* types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995; 270(30): 17771-7.
3. van Doorn LJ, Figueiredo C, Rossau R, et al. Typing of *Helicobacter pylori vacA* gene by PCR and reverse hybridization. *J Clin Microbiol* 1998; 36(5): 1271-6.
4. Martinez A, Gonzalez C, Kawaguchi F, et al. *Helicobacter pylori*: *cagA* analysis and *vacA* genotyping in Chile. Detection of a s2/m1 strain. *Rev Med Chil* 2001; 129(10): 1147-53.
5. Strobel S, Bereswill S, Balig P, et al. Identification and analysis of a new *vacA* genotype variant of *Helicobacter pylori* in different patient groups in Germany. *J Clin Microbiol* 1998; 36(5):1285-9.
6. Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(12): 5791-5.
7. Akopyants NS, Clifton SW, Kersulyte D, et al. Analyses of the *cag* pathogenicity island of *Helicobacter pylori*. *Mol Microbiol* 1998; 28(1): 37-53.
8. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science* 1999; 284(5418): 1328-33.
9. Tokumaru K, Kimura K, Saifuku K, et al. *cagA* and cytotoxicity of *Helicobacter pylori* are not markers of peptic ulcer in Japanese patients. *Helicobacter* 1999; 4(1): 1-6.
10. Yamaoka Y, Orito E, Mizokami M, et al. *Helicobacter pylori* in North and South America before Columbus. *FEBS Lett* 2002; 517(1-3): 180-4.
11. Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, Sander E. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *J Clin Microbiol* 2004; 42(4): 1648-5.
12. Saribas Z, Demir H, Saltik Temizel IN, Simsek H, Ozen H, Akyon Y. Detection of *cagA* prevalence in clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Mikrobiyol Bul* 2010; 44(3): 461-5.
13. Karaman M, Abacıoğlu H, Topalak ÖS, Şimşek İ. Peptik ülserli ve ülser olmayan dispepsili hastaların mide doku örneklerinde *Helicobacter pylori vacA* ve *cagA* genlerinin moleküler yöntemlerle belirlenmesi. *Mikrobiyol Bul* 2011; 45(1): 11-20.
14. Aydin F, Kaklıkkaya N, Ozgur O. Distribution of *vacA* alleles and *cagA* status of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease and non-ulcer dyspepsia. *Clin Microbiol Infect* 2004; 10(12): 1102-4.
15. Erzin Y, Koksall V, Altun 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(6): 574-80.