# مقایسه سه روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، کشت و تست اوره آز سریع در شناسایی هلیکوباکتر پیلوری در نمونه بیوپسی معده

محمد کارگر [*۱](Ph.D)، مریم باقرنژاد [۱](M.Sc)، عباس دوستی [۲](Ph.D)

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی

۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی

## چکیده

**سابقه و هدف: عفونت *H.pylori* با گاستریت، زخم معده و دوازدهه مرتبط است. بنابراین شناسایی و درمان آن از اهمیت زیادی برخوردار است. هدف از این پژوهش تشخیص *H.pylori* با روش PCR و مقایسه آن با روش‌های کشت و تست اوره آز سریع در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد می‌باشد.**

**مواد و روش‌ها: این پژوهش یک بررسی مقطعی توصیفی است که بر روی ۲۶۳ بیمار مراجعه‌کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد در تابستان ۱۳۸۶ انجام شد. از هر بیمار سه نمونه بیوپسی تهیه گردید و سپس با آزمون‌های تست اوره آز سریع، کشت در محیط انتخابی بروسلا آگار مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای تعیین هویت *H.pylori* از روش رنگ‌آمیزی گرم، اوره آز، کاتالاز و اکسیداز استفاده گردید. به منظور شناسایی ژن *ureC* از روش PCR استفاده شد.**

**یافته‌ها: از ۲۶۳ بیمار مورد بررسی به ترتیب ۳۶/۴۹٪، ۹/۵۰٪، ۱۳/۳۰٪، ۹/۴۸٪ و ۵/۵۰٪ از بیماران مبتلا به بیماری‌های گاستریت، زخم معده، زخم دوازدهه، التهاب مری و سرطان معده بودند. میزان آلودگی با روش‌های تست اوره آز سریع، کشت و PCR به ترتیب ۵۴/۳۷٪، ۳۱/۹۴٪ و ۸۴/۷۹٪ شناسایی گردید.**

**نتیجه‌گیری: با توجه به این‌که آزمون PCR در مقایسه با تست اوره آز سریع و کشت از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردار است، از این روش می‌توان به منظور تایید نهایی در شناسایی *H.pylori* استفاده نمود.**

**واژه‌های کلیدی: *Helicobacter pylori*، تشخیص، روش PCR، روش تست اوره آز سریع، روش کشت**

## مقدمه

لایه موکوس معده تنها زیستگاه اکولوژیکی *هلیکوباکترپیلوری* است. این باکتری به کمک عوامل بیماری‌زای خود مثل تاژه و آنزیم اوره آز از سد اسیدی معده عبور می‌کند. سپس با کمک ادهسین‌هایی مانند BabA و SabA به سلول‌های اپیتلیال معده متصل می‌گردد و با استفاده از عوامل حدت باکتری مانند ژن مرتبط با سیتوکسین (*cag*) و سیتوکسین واکوئل‌زا (*vacA*) موجب التهاب معده (گاستریت) و به دنبال آن بیماری‌هایی نظیر زخم معده، زخم دوازدهه، سرطان معده و لنفوم (Mucosa- MALT associated lymphoid tissue) می‌شود [۱]. بنابراین کاربرد روش‌هایی که موجب شناسایی صحیح عفونت *هلیکوباکترپیلوری* در بیماران می‌شود از اهمیت زیادی برخوردار است. روش‌های شناسایی هلیکوباکترپیلوری به دو گروه تهاجمی و غیرتهاجمی تقسیم‌بندی می‌شود. روش‌های تهاجمی شامل تست اوره آز سریع (RUT)، کشت و هیستولوژی است و روش‌های غیر تهاجمی شامل تست بررسی آنتی‌ژن مدفوعی و تست تنفسی اوره می‌باشد [۲].

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۷۳۱۴۹۲۰۳ نمابر: ۰۷۱۱-۶۲۶۲۱۰۲ Email:mkaragarmicro418@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۶/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۱۵



[ Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31 ]

علاوه بر روش‌های یاد شده، روش‌های مولکولی نظیر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) نسبت به بقیه روش‌ها از حساسیت و ویژگی بالایی برخودار است و مستقیماً بر روی نمونه‌های بیوپسی به کار برده می‌شود. به همین دلیل در اغلب پژوهش‌ها، روش PCR به منظور شناسایی انواع ژن‌های اختصاصی هلیکوباکترپیلوری مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳]. Lu و همکارانش در سال ۱۹۹۹ با مقایسه پنج روش PCR و Smith و همکارانش در سال ۲۰۰۴ با مقایسه سه روش PCR نشان دادند که PCR ژن *ureC* به منظور تکثیر یک قطعه ۲۹۵ جفت بازی اختصاصی‌ترین و حساس‌ترین روش PCR می‌باشد. ژن *ureC* (نام دیگر آن *glmM*) کد کننده آنزیم فسفوگلوکزآمین می‌باشد و تولید آن نیز ارتباطی با اوره آز هلیکوباکترپیلوری ندارد [۵،۴]. به همین دلیل ما نیز در این بررسی از پرایمرهای اختصاصی ژن *ureC* به منظور شناسایی عفونت هلیکوباکترپیلوری با روش PCR استفاده کردیم.

هدف از این پژوهش مقایسه روش PCR به عنوان استاندارد طلایی با دو روش کشت و تست اوره آز سریع در تشخیص *H. pylori* در نمونه‌های بیوپسی بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

**نوع مطالعه.** این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی بر روی ۲۶۳ بیمار مراجعه‌کننده به بخش اندوسکوپی مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان هاجر شهرکرد در سال ۱۳۸۶ انجام شد.

**بیماران مورد پژوهش.** این بیماران پس از معاینه توسط پزشک و تکمیل پرسش‌نامه (ثبت مشخصات دموگرافیک و سابقه مصرف دارو) در صورت داوطلب شدن برای اندوسکوپی انتخاب گردیدند. در این مطالعه افرادی که سابقه مصرف داروهای ضد اسید (مانند امپرازول، بیسموت و...) و مصرف آنتی‌بیوتیک داشتند از مطالعه خارج گردیدند.

**روش تهیه نمونه بیوپسی معده.** برای انجام اندوسکوپی بیمار توسط پرسنل بخش آماده گردید. به این ترتیب که قبل از وارد کردن دستگاه optic fiber (ساخت شرکت الیمپوس) به لوله گوارش از اسپری زایلوکائین به عنوان بی‌حس‌کننده در ناحیه دهان و حلق استفاده شد. سپس پروب دستگاه به ژل آغشته شد تا ورود به دستگاه گوارش با سهولت انجام شود و از هر فرد ۳ نمونه بیوپسی معده از ناحیه آنتروم گرفته شد. پس از هر بار نمونه‌گیری، ابتدا لوله اندوسکوپ با مایع ضد عفونی‌کننده و سپس با آب برای جلوگیری از انتقال آلودگی و اثر مواد شیمیایی شستشو گردید. یک قطعه بیوپسی در لوله‌های اوره برای تشخیص تست اوره آز سریع (RUT) انداخته شد. سپس دو قطعه بیوپسی برای کشت و آزمون PCR در ویال‌های حاوی فسفات بافر سالین استریل اضافه شد. نمونه‌ها در دمای پایین و در کم‌تر از سه ساعت به آزمایشگاه تحقیقاتی میکروب‌شناسی و بخش بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شد.

**تست اوره آز سریع.** (RUT) اصول انجام این آزمایش بر اساس فعالیت اوره آزی هلیکوباکترپیلوری است که اوره محیط را تجزیه و به دی اکسیدکربن و آمونیاک تبدیل می‌کند و باعث قلیایی شدن محیط می‌گردد. در نتیجه معرف موجود در محیط در اثر تغییر رنگ pH رنگ زرد محیط اوره را به صورتی مایل به بنفش تبدیل می‌کند.

**روش کشت.** دو ساعت قبل از انجام کشت آنکوباتور حاوی $CO_2$ را روشن کرده و فشار دی اکسیدکربن بین ۷ تا ۱۰٪ تنظیم گردید. سپس در زیر هود بیولوژیک و با کمک پنس استریل نمونه بیوپسی به قطعات ریز تبدیل شد و در محیط بروسلا آگار حاوی ۱۰٪ خون گوسفند واجد وانکومایسین (۶mg/L)، تری متوپریم (۵mg/L) و آمفوتریسین B (۲ mg/L) کشت داده شد و در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز در شرایط میکروآئروفیل گرم‌خانه‌گذاری گردید. تعیین هویت کلنی‌های رشد یافته با آزمون اوره آز، تست کاتالاز، اکسیداز و رنگ‌آمیزی گرم انجام گردید.

ارزیابی وجود هلیکوباکترپیلوری با شناسایی ژن *ureC* : از پرایمرهای



[ Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31 ]

F: 5 '- GGA TAA GCT TTT AGG GGT GTT
R: 5'- GCT TAC TTT CTA ACA و AGG GG-3'
ACG CGC – 3' به منظور تکثیر ژن ureC استفاده گردید [۵]. برای این منظور ۲/۵ میکرولیتر بافر X ۱۰، ۱ میکرولیتر MgCl2 (۵۰ میلی‌مولار)، ۲ میکرولیتر dNTPs (۱۰میلی‌مولار) و ۱۶/۷۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد. روش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Biometra) با شرایط حرارت ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (Hot start)، ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (Denaturation)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (Annealing)، ۴۷ درجه به مدت ۱ دقیقه(Extension) انجام شد. در مرحله آخر ۱۰ میکرولیتر محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ واجد اتیدیوم بروماید منتقل و پس از الکتروفورز به وسیله دستگاه ترانس الیمیناتور مورد بررسی قرار گرفت.

**محاسبه حساسیت و ویژگی روش‌های مورد پژوهش.** از فرمول‌های زیر برای محاسبه حساسیت، ویژگی، ارزش پیش‌بینی مثبت و منفی تست‌های RUT و کشت استفاده گردید [۷،۶].

$$\text{حساسیت} = \frac{\text{مثبت حقیقی} \times ۱۰۰}{\text{مثبت حقیقی + منفی کاذب}}$$

$$\text{ویژگی} = \frac{\text{منفی کاذب} \times ۱۰۰}{\text{منفی کاذب + مثبت کاذب}}$$

$$\text{ارزش پیش بینی مثبت} = \frac{\text{مثبت حقیقی} \times ۱۰۰}{\text{مثبت حقیقی + منفی حقیقی}}$$

$$\text{ارزش پیش بینی منفی} = \frac{\text{منفی کاذب} \times ۱۰۰}{\text{منفی حقیقی + منفی کاذب}}$$

$$\text{کارایی} = \frac{\text{مثبت حقیقی + منفی حقیقی} \times ۱۰۰}{\text{منفی حقیقی + منفی کاذب + مثبت حقیقی + مثبت کاذب}}$$

**آنالیز آماری.** نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS Ver 14، آزمون مربع کای و آزمون دقیق فیشر آنالیز گردید. مرز معنی‌داری روی $p<۰/۰۵$ قرار داده شد.

## نتایج

در این پژوهش برای ارزیابی گروه‌های سنی بیماران به ۸ گروه سنی از ۱۰ تا ۹۰ سال تقسیم‌بندی شدند. گروه سنی ۴۰ تا ۵۰ سال بیش‌ترین تعداد (۲۴/۷۰٪) و گروه سنی ۸۰ تا ۹۰ سال کم‌ترین تعداد (۱/۱۴٪) افراد مورد پژوهش بودند. از آن‌جایی که سابقه دارویی بیماران ممکن است نتایج بعضی از تست‌ها را تحت تاثیر قرار دهد سابقه مصرف دارویی بیماران با مهارکننده‌های پمپ پروتونی، مترونیدازول و بیسموت مورد ارزیابی قرار گرفت. امپرازول با ۴۱/۰۶۵٪ و بیسموت با ۵/۳۲۳٪ کم‌ترین داروی مصرفی بود. نتایج مثبت تست اوره آز سریع با توجه به اخذ یک نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم و تغییر رنگ محیط از رنگ زرد به بنفش گزارش گردید. از نمونه‌های مورد بررسی ۱۴۳ مورد مثبت (۵۴/۳۷٪) و ۱۲۰ مورد منفی (۴۵/۶۳٪) شناسایی شد (جدول ۱). با آزمون مربع کای مشخص شد که بین نتایج آزمون اوره آز سریع مثبت (۵۰/۹۵٪) و منفی (۴۹/۰۵٪) در زنان اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اما اختلاف نتایج مثبت و منفی در مردان معنی‌دار بود (جدول-۱). در کل ۸۴ نمونه مثبت کشت (۳۱/۹۴٪) و ۱۷۹ نمونه منفی کشت (۶۸/۰۶٪) شناسایی گردید (جدول ۱).

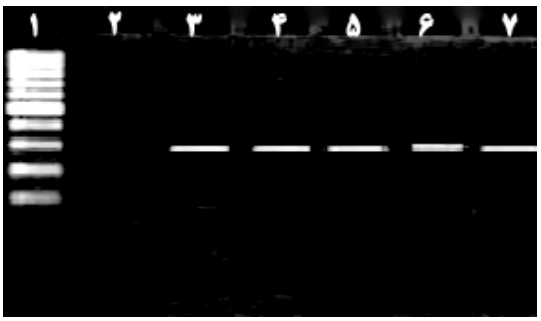
جدول۱. نتایج حاصل از آزمون‌های مورد پژوهش برای شناسایی هلیکوباکترپیلوری.

| نوع تست | مثبت | | منفی | |
|---|---|---|---|---|
| | تعداد | درصد | تعداد | درصد |
| PCR | ۲۲۳ | ۸۴/۷۹ | ۴۰ | ۱۵/۲۱ |
| کشت | ۸۴ | ۳۱/۹۴ | ۱۷۹ | ۶۸/۰۶ |
| RUT | ۱۴۳ | ۵۴/۳۷ | ۱۲۰ | ۴۵/۶۳ |

با آزمون آماری کای دو مشخص شد که بین نتایج مثبت و منفی کشت ارتباط معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰۱$). آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR بر روی نمونه‌های بیوپسی معده به منظور شناسایی قطعه ۲۹۵ جفت بازی ژن ureC انجام شد (شکل ۱). با آزمون مربع کای مشخص شد که

[ Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31 ]

نتایج مثبت شناسایی شده با PCR اختلاف چشم‌گیری با نتایج منفی دارد ($p<0/01$). بیش‌ترین میزان شناسایی *H.pylori* مربوط به روش PCR، ۲۲۳ نمونه بیوپسی (۸۴/۷۹٪) و کم‌ترین میزان شناسایی آن مربوط به روش کشت ۸۴ مورد مثبت (۳۱/۹۴٪) بود (جدول۱). با آزمون دقیق فیشر تست‌های کشت و RUT با PCR (استاندارد طلایی) مقایسه گردید.




شکل۱. PCR محصول ژن ureC (۲۹۵bp) بر روی ژل آگاروز ۱/۵ ٪ رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید. ردیف ۱: سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ردیف ۲: کنترل منفی، ردیف ۳ : کنترل مثبت، ردیف ۴ تا ۷ مربوط به نمونه‌های مثبت شناسایی شده می‌باشد.

در این پژوهش به دلیل بالاتر بودن حساسیت و ویژگی PCR نسبت به کشت و اوره آز سریع به عنوان استاندارد طلایی انتخاب گردید و میزان حساسیت، ویژگی، ارزش پیش‌بینی مثبت، ارزش پیش‌بینی منفی و کارایی دو تست RUT و کشت نسبت به استاندارد طلایی (PCR) اندازه‌گیری شد (جدول ۲). ارزش پیش‌بینی مثبت ( Positive predictive value =PPV) در مورد تست اوره آز سریع نشان‌دهنده این است که به احتمال ۹۶٪ نتیجه آزمایش یک بیمار گوارشی با تست اوره آز سریع مثبت خواهد بود و در مورد روش کشت نشان‌دهنده این است که به احتمال ۹۷٪ نتیجه آزمایش یک بیمار گوارشی با کشت مثبت می‌باشد. اما ارزش پیش‌بینی منفی (Negative predictive value=NPV) تست RUT نشان‌دهنده این است که به احتمال ۲۹٪ نتیجه آزمایش یک فرد سالم با روش کشت منفی خواهد بود و نیز در مورد کشت نشان‌دهنده این است که به احتمال ۲۱/۲۲٪ نتیجه آزمایش یک فرد سالم با روش کشت منفی می‌باشد (جدول ۲ ). از ۲۶۳ بیمار مورد بررسی به ترتیب ۳۶/۴۹٪ ، ۹/۵۰٪ ، ۱۳/۳۰٪ ، ۹/۴۸٪ و ۵/۵۰٪ از بیماران مبتلا به بیماری‌های گاستریت، زخم معده، زخم دوازدهه، التهاب مری و سرطان معده بودند.

جدول ۲. مقایسه درصد حساسیت، ویژگی و کارایی تست‌های RUT و کشت در مقایسه با روش PCR (حساسیت و ویژگی PCR به عنوان استاندارد طلایی ۱۰۰٪ در نظر گرفته شده است)

| تست | RUT | کشت |
|---|---|---|
| حساسیت | ۶۱ | ۳۶/۷۷ |
| ویژگی | ۸۷ | ۹۵ |
| ارزش پیش بینی مثبت | ۹۶ | ۹۷ |
| ارزش پیش بینی منفی | ۲۹ | ۲۱/۲۲ |
| کارایی | ۶۵ | ۴۵/۶۲ |

## بحث و نتیجه‌گیری

روش‌های متعددی برای شناسایی دقیق *H.pylori* وجود دارد که هر کدام مزایا و معایب خاص خود را دارد. هیچ‌کدام به تنهایی قادر به تشخیص قطعی و بدون خطای عفونت نیستند. روش‌های شناسایی *H.pylori* به دو دسته تهاجمی و غیرتهاجمی تقسیم می‌شود. برای انجام روش‌های تهاجمی، بیمار باید اندوسکوپی شود و نمونه بافتی از معده بیمار گرفته شود. روش‌های تهاجمی شامل تست اوره آز سریع (RUT)، کشت، هیستولوژی و PCR می‌باشد [۵]. تست اوره آز سریع متداول‌ترین تست شناسایی *H.pylori* می‌باشد و حساسیت و ویژگی آن به ترتیب بین ۸۵ تا ۹۵٪ و ۹۸ تا ۱۰۰٪ گزارش شده است. مزایای عمده این تست ویژگی بالا، راحت بودن روش آزمایش، انجام دادن تست در مطب یا محل اندوسکوپی می‌باشد. حساسیت و ویژگی RUT وابسته به زمان است. در کم‌تر از یک ساعت با وجود مناسب بودن ویژگی اما حساسیت کمی دارد. کیفیت نمونه بیوپسی شاید دلیلی برای کاهش حساسیت و ویژگی RUT باشد. به عنوان مثال آلودگی نمونه بیوپسی به خون، اسید معده یا رفلاکس صفراوی، موجب کاهش حساسیت و ویژگی تست RUT



[ Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31 ]

می‌شود. مصرف داروهای ضد ترشح اسید، مانند آنتی‌اسیدها و مهارکننده پمپ پروتونی توسط بیمار موجب کاهش حساسیت تست می‌شود [۸،۷]. Yakoob و همکاران در پاکستان در سال ۲۰۰۴، چهل درصد از بیماران مبتلا به علایم گوارشی را با استفاده از روش RUT شناسایی کردند [۹]. هم‌چنین Tzeng و همکارانش در سال ۲۰۰۵ در تایوان توانستند با بررسی ۱۱۱ بیمار توانستند ۵۸/۵۵ ٪ از از بیماران دارای مشکلات گوارشی را با روش RUT شناسایی نمایند [۱۰].

ما نیز در این پژوهش ۱۴۳ بیمار دارای علایم کلینیکی (۵۴/۳۷٪) را با روش RUT شناسایی نمودیم. یکی از ویژگی‌های برجسته کشت تعیین حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. پژوهش‌های انجام شده نشان داده که حساسیت و ویژگی این روش به ترتیب ۷۰ تا ۸۰ و ۱۰۰ درصد است. اما نتایج ما نشان داد که حساسیت و ویژگی کشت ۳۶/۷۷٪ و ۹۵٪ است. از مهم‌ترین دلایل حساسیت و ویژگی پایین‌تر کشت در مقایسه با سایر روش‌های تشخیصی می‌توان به مواردی مانند تاخیر در انتقال و یا پاساژ نمونه بیوپسی بعد از انجام اندوسکوپی، هموژنیزه نشدن مناسب نمونه‌های بیوپسی، مصرف مهارکننده‌های پمپ پروتونی و آنتی‌بیوتیک توسط بیمار و کم بودن تعداد نمونه‌های بیوپسی اشاره کرد [۸].

بهترین نتایج در مورد کشت زمانی است که حداقل چهار نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم تهیه گردد. هم‌چنین در مورد ابتلا فرد به گاستریت بایستی دو نمونه از ناحیه کورپوس معده نیز گرفته شود. در سال ۱۳۸۶رضوی زادگان و همکاران (۱۱/۶۶٪) از بیماران دارای علایم گوارشی را با روش کشت شناسایی کردند [۱۱]. ما در این پژوهش (۳۱/۹۴٪) را با روش کشت شناسایی کردیم. PCR یکی از روش‌های سریع و بسیار حساس برای تشخیص DNA و حضور میکروارگانیسم در مقادیر بسیار کم است. به همین دلیل به کمک این روش می‌توان ارگانیسم‌های غیرقابل کشت و یا دیر رشد را به سرعت تشخیص داد. امروزه روش PCR به عنوان یک روش بسیار حساس و دقیق برای تشخیص *H.pylori* در نمونه‌های بیوپسی معده، پلاک دندانی و حتی بزاق دهان به کار می‌رود. حساسیت و ویژگی این تست به ترتیب ۶۵ تا ۹۹٪ و ۹۷ تا ۱۰۰٪ می‌باشد در سال ۱۳۸۵ دوستی و همکارانش در شهرکرد و در سال ۱۳۸۶ رضوی زادگان و همکارانش در استان فارس ۸۶٪ و ۷۰٪ از بیماران دارای ناراحتی گوارشی مبتلا به *H.pylori* را با روش PCR تشخیص دادند [۱۲،۱۱]. ما نیز در این پژوهش ۸۴/۷۹٪ از بیماران *H.pylori* را با PCR شناسایی کردیم که مشابه نتایج دکتر دوستی و همکاران بود.

با توجه به این‌که منفی شدن آزمون اوره آز سریع به مبنای عدم آلودگی با *H.pylori* نیست. بنابراین استفاده از آزمایش‌های تاییدی مکمل بافت‌شناسی و یا PCR با توجه به امکانات موجود برای بررسی مجدد نمونه‌های دارای نتایج منفی توصیه می‌گردد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به دلیل پشتیبانی علمی از این پژوهش اعلام می‌دارند.

## منابع

[1] Kusters JG, van Vliet AH. and Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. Clin Microbiol Rev 2006; 19: 449-490.

[2] Goddard AF. and Logan RP. Diagnostic methods for Helicobacter pylori detection and eradication. Br J Clin Pharmacol 2003; 56: 273-283.

[3] Mishra KK, Srivastava S, Dwivedi PP, Prasad KN. and Ayyagari A. UreC PCR based diagnosis of Helicobacter pylori infection and detection of cag A gene in gastric biopsies. Indian J Pathol Microbiol 2002; 45: 31-37.

[4] Lu JJ, Preng CL, Shyu RY, Chen CH, Lou Q, Chong SK. and Lee CH. Comparison of five PCR methods for detection of Helicobacter pylori DNA in gastric tissues. J Clin Microbiol 1999; 37: 772-774.

[5] Smith SI, Oyedeji KS, Arigbabu AO, Cantet F, Megraud F, Ojo OO. and et al. Comprasion of three PCR method for detection of Helicobacter pylori DNA and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens.World J Gastroenterol 2004; 10: 1958-1960.

[6] Malekpor A. and Yosefi S. Editors. Laboratory Quality Control. 1 Ed, Tehran ;1386: 235-250. (Persian).

[7] Garza-González E, Bosques-Padilla FJ, Tijerina-Menchaca R, Flores-Gutiérrez JP, Maldonado-Garza HJ. and Pérez-Pérez GI.. Comparsion of endoscopy – based and serum –based methods for the diagnosis of Helicobacter pylori. Can J Gastroenterol 2003; 17: 101-106.

[8] Ghotaslu R, Kazemi B, Megro F, Elyasi H, Zargarizadeh A. and Rakhshan M. Sensitivity & specificity of RUT for detection of Helicobacter pylori. J Jahrom Medical Science 2005; 2: 5-9. (Persian)



[ Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31 ]

[9] Yakoob J, Jafri W, Abid S, Jafri N, Abbas Z, Hamid S. and et al. Role of rapid urease test and histopathology in diagnosis of Helicobacter pylori infection in developing country. BMC Gastroenterol 2005; 5: 38-41.

[10] Tzeng GE, Lin YL. and Chu YT. Coparsion of four diagnostic methods for Helicobacter pylori. Tzu Chi Med J 2005; 17: 339-343.

[11] Razavi zadegan H. Evaluation of Helicobacter pylori infection by PCR, ELISA and culture in adults in Fars province, Msc Tesis, Jahrom Azad University 2006. (Persian)

[12] Doosti A, Rahimian G, Nasiri J. and Yavari forushani P. Evaluation of cytotoxin gene associated in Helicobacter pylori strains isolated from biopsy specimens of Shahrekord. Armaghan Danesh 2007; 12: 30-38. (Persian)

[ Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31 ]

# Compression of three methods of polymerase chain reaction, culture and rapid urease test in diagnosis of *Helicobactr pylori* in gastric biopsy specimen

Mohammad Kargar ( Ph.D)[*1], Maryam Baghernejad (M.Sc)[1], Abbas Doosti (Ph.D)[2]
*1 – Dept.t of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom. Jahrom, Iran*
*2 - Biotechnology Reasearch Center, Shahrekord Azad University, Sharekord, Iran.*

(Received: 21 Sep 2009 Accepted: 4 Jan 2010**)**

***Introduction:*** *Helicobactr pylori* (H.pylori) infection is related to chronic gastritis, peptic ulcer and duodenal ulcer. Thus, identification and treatment of the infection has a considerable importance. The aim of this study was to compare three methods of polymerase chain reaction (PCR), culture and rapid urease test (RUT) in identification of *Helicobactr pylori* in gastric biopsy specimens.

***Material and Methods:*** 263 patients (157 woman and 106 man) who suffering from digestive complaints and referred to the endoscopy department of Hajar Hospital in Sharkord (2007, Iran) were participated in the study. Three gastric biopsy samples were collected from each patient. Samples were examined by standard RUT and culture methods for diagnosis of *H. pylori.* PCR was used for diagnosis of *ureC* gene.

***Results:*** Out of 263 patients, 36.49%, 9.50%, 13.30%, 9.48% and 5.50% had criteria gastritis, gastric ulcer, duodenal ulcer, esophagitis and gastric cancer, respectively. *H.pylori* infection was diagnosed in 54.37%, 31.94% and 84.79% of the patients by RUT, culture and PCR method, respectively.

***Conclusion:*** Findings of this study indicated that PCR has a greater sensitivity rather than rapid urease test and culture methods for diagnosis of *H.pylori*.

***Key words:*** *Helicobacter pylori*, Diagnosis, Culture test, Rapid urease test, Polymerase chain reaction

* Corresponding author: Fax: +98 711 6262102, Tel: +98 9173149203
microkargar@gmail.com

[ Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-07-31 ]