

***Helicobacter pylori* infeksiyonunda üreaz enziminin rolü ve önemi**

The importance and the role of urease enzyme in Helicobacter pylori infection

Ebru Demiray, Özlem Yılmaz

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir

İletişim / Correspondence: Özlem Yılmaz Adres / Address: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 35340 Inciraltı, İzmir Tel: 02324124506 Fax: 02322590541 E-mail: ozlem.yilmaz@deu.edu.tr

ÖZET

Helicobacter pylori gastrit, gastrik ve duodenal ülserler, gastrik karsinoma ve mukoza ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoma da major patojen olarak tanımlanmış kronik infeksiyon etkeni bir bakteridir. *H. pylori* midede kolonize olabilen tek mikroorganizmadır ve gastrik mukus salgılayan hücrelerde yerleşim özelliği ile bilinir. Mide mukozasına kolonizasyonda yüksek hareket özelliği, artan üreaz enzimi varlığı ve yüzey lektinlerinin ekspresyonu gibi hücresel karakteristikler rol oynar. Bu derleme yazıda, *H. pylori*'nin mide mukozasını kolonizasyonu ve üreaz enziminin bu kolonizasyondaki önemi ve rolü tartışılmıştır.

Anahtar kelimeler: *Helicobacter pylori*, üreaz enzimi

SUMMARY

Helicobacter pylori is a chronic infectious agent as defined the major pathogen causing gastritis, gastric and duodenal ulcer, gastric carcinoma and mucosa associated lenfoid tissue (MALT) lymphoma. *H. pylori* is the only microorganism known to inhabit the human stomach and lining the gastric mucosal cells. Cellular characteristics such as the high motility, the profuse production of urease and the expression of surface lectins play a role in colonizing to human stomach. In this review article, the colonization of *H. pylori* to stomach mucosa and the importance and the role of urease enzyme in this colonization have been discussed.

Keywords: *Helicobacter pylori*, urease enzyme

GİRİŞ

Helicobacter pylori hareketli, spiral yapıda mikroaerofilik Gram negatif bakteridir (1,2). *H. pylori* gastrit, gastrik ve duodenal ülserler, gastrik adenokarsinoma ve mukoza-ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoma da major patojen olarak bildirilmekte, ancak fonksiyonel dispepside rolü tartışılmaktadır (3,4). *H. pylori* infeksiyonu ile oluşan gastroduodenal hastalıklarda bakterinin halk sağlığı açısından önemli bir rolü bulunmaktadır (4). *H. pylori* gastrik mukozada yerleşir ve gastrik epitel hücreleri hedef alır (5). Gelişmekte olan ülkelerde *H. pylori* infeksiyonu prevalansı %70-90, gelişmiş ülkelerde %25-50'dir (2). İnsandan insana bulaş birincil bulaş yoludur. Fekal-oral, oral-oral geçişte bildirilmektedir (6). Midenin

kronik *H. pylori* infeksiyonu gastroduodenal hastalıkların gelişiminde temel bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır. *H. pylori* "International Agency for Cancer Research (IACR)" tarafından Sınıf I karsinojen olarak sınıflandırılmıştır (7).

H. pylori midede kolonize olabilen tek mikroorganizmadır (8). *H. pylori* pH'ın 4.5-6.5 olduğu gastrik mukus tabakasında yaşar (9). Mide mukozasına kolonizasyonda yüksek hareket özelliği, artan üreaz üretimi, yüzey lektinlerinin ekspresyonu gibi hücresel karakteristikler rol oynar (5). Üreaz enzimi ürenin amonyak ve karbondioksit hidrolizini katalizleyen nikel bağımlı enzimdir (10,11). Üreaz enzimi operonu *H. pylori* kromozomunun 34 kb kısmına lokalizedir. Üre operonu, ÜreA ve ÜreB olan iki yapısal alt üniteyi,

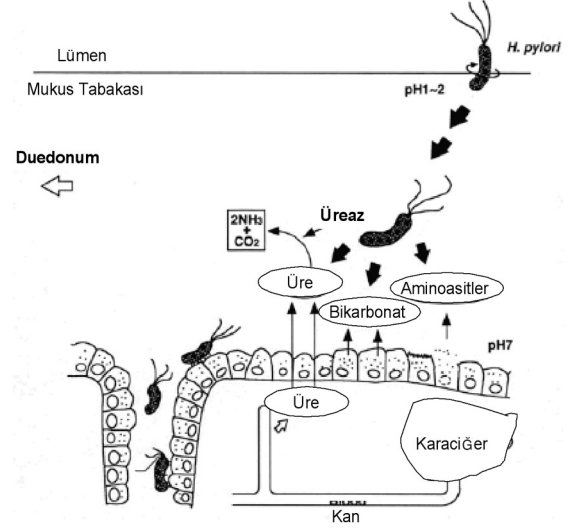
UreC ve UreD olan iki regülatör alt üniteyi kodlar. Ayrıca UreI, UreE, UreF, UreG, UreH olan beş yardımcı proteini kodlar (12-14). Üreazın enzimatik aktivitesi asidik pH yanıtında bakteriyal hücreye ürenin girişini regüle eden iç membran pH bağımlı UreI kanalıyla kontrol edilir (9,15,16).

H. pylori üreaz enzimi toplam hücre proteininin %10'dan daha fazlasını oluşturur. Gastrik mukozal lümen pH'sının 2 olması ve *H. pylori*'nin adhere olacağı gastrik epitelial hücre yüzeyinde pH'nın nötrale yaklaşması, yüksek düzey üreaz aktivitesinin *H. pylori* infeksiyonunun her aşamasında gerekli olmadığını düşündürmektedir (17). *H. pylori* infeksiyonu eradikasyonunda daha etkili tedavi stratejilerinin oluşturulması için, *H. pylori*'nin insan midesinin visküz ve asidik mucus tabakasındaki kolonizasyon mekanizmasının anlaşılması önemlidir (18).

Helicobacter pylori infeksiyonu ve patogenezi.

Gastrik mukoza bakteriyal infeksiyonlara karşı iyi korunmuş bir bölgedir. *H. pylori*, bu ekolojik çevreye iyi uyum sağlar (19). *H. pylori* düşük pH'ya oldukça duyarlıdır ve mide lümenine yerleşmez, gastrik mukozayı kaplayan mucus tabakayı kolonize eder. Sülfatlanmış polisakkaritlerden oluşan mucus, mide asidinden protonların difüzyonunu engeller, mukozal yüzeyde alkali pH'yı sürdürebilmek için bir tampon olarak rol oynar ve aside duyarlı olan mukozal hücreleri korur. *H. pylori*'nin yaşamını sürdürebilmesi için mucus tabakasına erişebilmesi gerekmektedir. *H. pylori*'nin en önemli virulans faktörlerinden biri yüksek hareket özelliğine sahip olmasıdır. Aynı zamanda kemotaksis gösterebilir. *H. pylori* üreaz enzimi sayesinde mucus tabakasına erişebilmek için midesinin asit pH'ında uzun süre yaşayabilmektedir (Şekil 1) (20).

Şekil 1. *Helicobacter pylori*'nin gastrik mukozaya kolonizasyon modeli (18)



Üre midede 1-14mM konsantrasyonda bulunur (21). Gastrik mukoza hücreleri tarafından mide içine karbonat ve üre salgılanır. Üreaz enzimi amonyak ve karbondioksit üretmek için gastrik hücrelerden salgılanan üreyi hidrolize ederek *H. pylori*'nin çevresinde mide asidini nötrale eden amonyak tabakası oluşturur (11,13,18,21,22). Mucus sürekli olarak üretilerek mide lümeni içine salınır. *H. pylori*, mukozal hücreden salgılanan ve şekillenen yeni mucus tabakası içinde bipolar kılıflı kirpiğin tirbüşon benzeri hareketi sayesinde tabakalar içerisinde hızla ilerleyebilmektedir. Infekte birey ya da hayvandan alınan örneklerde, bakterilerin çoğu mukozal hücrelerin tarafına değil mucus tabakasına yerleşir. *H. pylori* mide epitel yüzeyindeki mucus tabakasında yaşayarak gastrik asiditeden korunmakta, az bir kısmı gastrik epitele yapışmaktadır. Doku içine invaze olmamaktadır. *H. pylori* sülfatlanmış mucus şekerlerine ve epitel hücreye bağlanmasını sağlayan adezinler üretir. Epitel hücrelerin yüzeyinde bulunan bir karbohidrat antijeni olan Lewis b antijenini tanıyan BabA en iyi tanımlanmış bir adezin ti-

pidir. Bütün *H. pylori* suşlarında kirpik ve üreaz enziminin bulunmasına rağmen, BabA yalnızca bazı suşlarda bulunur (20).

H. pylori midede uzun süreli yangıya neden olur, ancak kolonize olan kişilerin küçük bir bölümünde peptik ülser veya gastrik kanser gelişir. *H. pylori* suşları arasındaki fenotipik ve genotipik farklılıklar konak yangısal cevabını ve klinik sonucu etkilemektedir (12). Üreaz enziminin üreyi parçalaması sonucu oluşan amonyak ökaryotik hücreler için toksiktir ve enzim kendi kendine gastrik mukozada inflamatuvar bir etkiye sahiptir. Ülserli hastalarda, *H. pylori*'nin sahip olduğu üreaz enzimine karşı serum antikorları üretilir (20).

ÜREAZ ENZİMİ

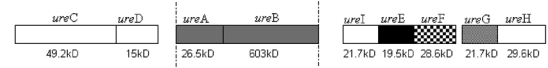
H. pylori'nin ürettiği üreaz enzimi, 550 kDa ağırlığında nikel içeren multimerik bir enzimdir (Şekil 2) (8,10). Üreaz enzimi ürenin amonyak ve karbondioksit hidrolizi reaksiyonunu katalizler. Oluşan amonyak mide asidini nötralize ederek bakterinin kolonizasyonuna yardımcı olur (8,10,12,13,22-24). Hayvan deneylerinde üreaz enzimine sahip olmayan mutant suşun kolonize olmadığı gösterilmiş ve üreaz enziminin *H. pylori* kolonizasyonunun ilk evresinde önemli olduğu kabul edilmiştir (20,24,25). Üreazın hücresel lokalizasyonu hakkında hala belirsizlik vardır. *H. pylori*'nin üreyi alıp, amonyağı dışarı verdiği ya da parçalanmış *H. pylori* hücrelerinin üreaz enziminin hayatta kalan *H. pylori* hücrelerinin etrafını kapladığı düşünülmektedir (10,11,20).

Şekil 2. *H. pylori* üreaz enziminin yapısı (8).



Üreaz enzimi operonu *H. pylori* kromozomunun 34 kb kısmında bulunur. Üre operonu, *UreA* ve *UreB* olan iki yapısal alt üniteyi, *UreC* ve *UreD* olan iki regülatör alt üniteyi kodlar. Ayrıca *UreI*, *UreE*, *UreF*, *UreG*, *UreH* olan beş yardımcı proteini kodlar (12-14). Regülatör genler *ureC* ve *ureD* bir mRNA transkriptinde, yapısal genler *ureA* ve *ureB* ikinci mRNA transkriptinde ve yardımcı genler *ureI*, *ureE*, *ureF*, *ureG* ve *ureH* üçüncü mRNA transkriptinde gösterildiği (Şekil 3) (13,14) ayrıca, *ureD* ve *ureA* arasında 420 bp *ureB* ve *ureI* arasında ise 200 bp intergenik bir bölge olduğu bildirilmektedir (13).

Şekil 3. *H. pylori*'nin üreaz enzimi operonu (14)



Regülasyon Üreaz enzimi alt üniteleri Yardımcı genler

H. pylori'nin gastrik asiditedeki adaptasyonunda primer mekanizma *ureI* tarafından sitoplazmanın içerisine üre girişinin hızlandırılmasıdır (11,24). H⁺ kapılı üre kanalı *ureI* tarafından kodlanır (13, 15, 23, 25-27) ve aside maruz kaldığında *H. pylori* içerisine üre girişini 300 kat arttırmaktadır (11,25). Periplazmik yüzeydeki *ureI*, üre transportu ve üreaz aktivasyonunun pH aralığında proton geçişi için 5-6 histidine sahiptir (25). *H. pylori* gastrik mukozal tabakaya girer, üreaz metalloenziminin bir araya gelmesi başlar. Sitozolik metalloenzim katalitik aktivite için 6 aktif bölgenin her birinde 2 nikel iyonuna gereksinim duyar. Nikel iyonlarının bağlanmasına yardımcı olarak *H. pylori* üreazı aktif bölgesinde 8 histidin residüsü ve 1 sistein rezidüsü içermektedir. Yardımcı proteinler apoenzime nikel iyonunun eklenmesinde görevlidirler. Nikel birleşiminde aynı zamanda bir başka protein NixA'da gerekir. NixA hücre içine nikel iyonlarının taşınmasını sağlayan sitoplazmik membran proteindir (12,17). Nikel iyonları önce hücre içerisine transport edilir, NixA taşıyıcısından salınırlar ve *ureE* onları biriktirir. *ureE* geni sonra nikel iyonlarıyla üreaz

enziminin aktif bölgesine verilir. *ureF* ve *ureG*'nin, *ureE* ile kompleksin etkileşimini kolaylaştırarak metallomerkez toplanma bölgesine karbondioksit götürdüğü bildirilmektedir (13).

"ABC taşıyıcısı", "P-tip adenosin trifosfat (ATPase)", "Hpn (histidine-rich protein)" ve HspA (heat shock protein A), nikel iyon transportunu etkileyebilen ve üreaz enzimi aktivitesini artırabilen diğer proteinlerdir (12,13). Bu proteinler NixA'nın değiştiği bölgelerde NixA için yedek sistem gibi rol oynar (13). İndüklenebilir nitrik oksit sentazın up-regülasyonu ve nitrik oksit salınımının *ureA* ekspresyonu ile ilişkili olduğu ve üreaz enziminin sadece amonyum üretiminde değil, yangıda da rolü olabileceği düşünülmektedir (12).

H. pylori'nin asit direnci ve metal metabolizması arasında yakın bir ilişki vardır. Metaller ve asit direnci arasındaki temel bağ nikelidir. Nikel üreaz enziminin kofaktörüdür. Üreaz ekspresyonu ve aktivitesi NikR regülatör proteini tarafından nikel varlığı aracılığıyla regüle edilir (16,24). Transkripsiyonel regülatörlerden ikisi metal bağımlı regülatör NikR ve Fur, ayrıca *ArsRS* iki bileşenli sinyal transdüksiyon sisteminin asit-yanıtlı genlerin transkripsiyonel regülasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. *ArsRS* sistemi düşük pH'ya yanıt veren histidin kinaz *ArsS* ve *OmpR* benzeri yanıt regülatörü *ArsR* içerir. Histidin kinaz *ArsS* inaktivasyonu farede *H. pylori* kolonizasyonunu engeller. Histidin kinazı kodlayan *arsS* geni *H. pylori*'nin in vitro üretilmesinde etkilenmezken, yanıt regülatör geni *arsR* in vitro üremede gereklidir (9,28). *H. pylori*'de çevrenin pH'ı otofosforilasyonu uyaran histidin kinaz *ArsS*'nin (asit-yanıtlı sinyal;HP165) periplazmik domaini tarafından direkt olarak hissedilir ve yanıt regülatörün *OmpR* ailesine ait olan aynı kökenli yanıt regülatör *ArsR*'ye (HP166) fosforil grubu transfer eder (9).

Üreaz yapısal genlerinin transkripsiyonunun NikR nikel-yanıt regülatör proteini tarafından nikel kofaktörü varlığı ile kontrol edildiği bildirilmektedir (9,16). NikR (HP1338), Nik ABC taşıyıcısı

aracılığıyla nikel kazanılmasını düzenleyen *Escherichia coli* NikR proteini ile benzerlik gösterir (9,16,24). Ancak, *H. pylori* NikR, Ni^{+2} varlığının bir yanıtı olarak, Ni^{+2} alımı ve saklanması, Fe^{+3} alımı ve saklanması, stres yanıtı, hareket ve dış membran proteinlerini kapsayan genler ve UreAB genlerini kontrol eden bir transkripsiyon baskılayıcı veya aktive edici rol oynayan pleiotropik regülatör proteindir (9,28). Demir-yanıtlı regülatör Fur pH 5.5'e gereksinim duyar (16). Diğer prokaryotlardaki gibi *H. pylori*'de Fur proteini (HP1027) Fe^{+3} alan ve saklayan proteinlerin ekspresyonunun regülasyonu aracılığıyla korunan demir homeostasisi için önemlidir (9). Fur *H. pylori* paralog amidazları *AmiE* ve *AmiF*'nin demir-yanıtlı regülasyonuna aracılık ettiğinden, NikR ve Fur metal regülatör sistemleri ve asit direnci arasındaki ilişki yalnızca bozulan metal homeostasisine bağlı olmayabilir (16). Amidaz genleri yalnızca midede yerleşen *H. pylori*, *H. acinonychis* ve *H. felis* gibi *Helicobacter* türlerinde bulunur ve bu *Helicobacter* türlerinin nitrojen metabolizmasındaki enzimlerde önemli rol oynar. Amidaz genlerinin transkripsiyonu asidik pH'da indüklenir (9,28). Her iki amidaz da amino asit deaminasyonu ile birlikte amit substratını amonyağa parçalar. Bu nedenle üre yokluğu olduğu zamanlarda amonyak üretimi için alternatif bir sistemdirler (9,16). Ayrıca, arginazı kodlayan *rocF* geni *ArsRS* tarafından regüle edildiği gösterilmiştir. Arginaz argininin bölünmesiyle üre ve ornitin üretir. Bu enzim, çevredeki ortamda ürenin azlığında üreaz enzimine bağlı asit direncine katılabilir (28). NikR asit direnci için gereksinilen demir-yanıtlı reseptör proteini Fur'u kodlayan *fur* geninin transkripsiyonunu baskılar (15). Demirin fazla olduğu durumlarda, *amiE*'nin transkripsiyonu Fur tarafından baskılandığı gösterilmiş ancak *amiF* transkripsiyonu Fur tarafından kontrol edilmediği bildirilmiştir (28). Fur ve NikR proteinlerinin karakterizasyonunun midede *H. pylori*'nin yerleşmesine izin veren mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını sağlayabileceği düşünülmektedir (16).

H. pylori infeksiyonu tanısında üreaz enzimi

Biyopsi üreaz testi. Mide biyopsi örneklerinden *H. pylori*'nin dolaylı olarak saptanmasında bakterinin fazla miktarda üreaz salgılaya yeteneğinden yararlanılır. Üreaz temelli testlerin duyarlılığı midedeki bakteri yoğunluğu ile ilişkilidir (7). Üre içeren katı, yarı-katı veya sıvı ortamlar mevcuttur. *H. pylori* üreazı ortamdaki üreyi amonyak ve bikarbonata parçalar. Amonyum ile pH artar ve pH indikatörü ile ortamın rengi değişir (20). Ticari veya laboratuvarında hazırlanan üreaz testleri bulunmaktadır. "CLO test", "HUT test", "Helicoccheck", "Hp fast", "Pylori Tek" ve "gastroskopi üreaz test (GUT)" ticari kitlerdir. Konsantr (% 10'luk) üre içeren laboratuvarında hazırlanan üreaz testi 15 dakikada, hızlı sonuç verir (29).

Üre nefes testi (UBT). UBT birçok çalışmada altın standart yöntemlerden biridir. Ağız yoluyla alınan ^{13}C veya ^{14}C işaretli üre, *H. pylori* ile infekte kişilerde bakterinin üreaz enzimi ile parçalanır. Oluşan işaretli CO_2 'in solunum havasında tespit edilmesi esasına dayanır. Duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksek tanı testidir ve eradikasyon tedavisinin izleminde de kullanılmaktadır. Diğer bir gastrik *Helicobacter* olan *H. heilmanni* yalancı olumlu sonuçlara neden olabilir. Antibiyotik tedavisi, bizmut tuzlarının kullanımı veya proton pompa inhibitörlerinin kullanımı ise yalancı olumsuz sonuçlara neden olabilir (30).

Westernblot. *H. pylori*'ye karşı oluşan sıvısal bağışık yanıt bakterinin çeşitli hücre yapılarına karşı oluşur ve oldukça güçlüdür. "İmmunoblotlama" teknikleri ile başlıca hangi antijenlere karşı antikor yanıtı oluştuğu gösterilebilir. Bu antijenler CagA antijeni, üreaz alt üniteleri olan UreA ve UreB, ısı-şok proteinleri HspA ve HspB, kirpik alt üniteleri, katalaz, lipopolisakkarit, "current infection marker" ve OMP gibi önemi henüz bilinmeyen bazı antijenlerdir. *H. pylori* suşları arasındaki farklılıkların yanı sıra bakteriyle infekte kişilerdeki bağışık yanıtta da farklılıklar görülür. (31).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR). Moleküler yöntemler, özellikle PCR *H. pylori*'nin mide bi-

yopsi, tükürük, diş plağı, dışkı gibi klinik örneklerde *H. pylori* tanısında kullanılır (2,32). Moleküler testlerin muhtemel klinik kullanım alanları; tedavi sonrası nüksü, re-infeksiyondan ayırma, bakteri sayısının az olduğu dental plak, dışkı gibi örneklerden tanımlama ve klinik önemi olan DNA mutasyonlarını saptamadır (33). Ayrıca üreaz gibi virulans faktörlerinin saptanabilmesi ve canlı bakteriye gereksinim duyulmaması önemli avantajlarıdır (30,34).

Sonuç olarak, gastrik karsinogenezde ve çeşitli gastrik hastalıkların patogeneğinde *H. pylori*'nin klinik önemi üreaz enziminin rolünün anlaşılmasını gerektirmektedir. Son yıllarda, antibiyotiklere dirençli klinik suşlar *H. pylori* infeksiyonunda tedavi başarısızlığını arttırmaktadır. Bakteri kolonizasyon da önemli olan üreaz enzimini hedef alan spesifik ilaçlar geliştirilmesinin tedavide etkili olabileceği düşünülmektedir. Dolayısıyla, moleküler çalışmalarla *H. pylori* kolonizasyonunda üreaz enziminin rolünün açıklığa kavuşturulmasının *H. pylori* infeksiyonu eradikasyonunda kontrolünde, yeni tedavi stratejilerinin gelişmesinde yardımcı olacaktır kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. Vinette KMB, Gibney KM, Proujansky R, Fawcett PT. Comparison of PCR and clinical laboratory tests for diagnosing *Helicobacter pylori* infection in pediatric patients. BMC Microbiol 4: 5 (2004).
2. Kabir S. Detection of *Helicobacter pylori* in faeces by culture, PCR and enzyme immunoassay. J Med Microbiol 2001; 50: 1021-1029.
3. Makristathis A, Barousch W, Pasching E, Binder C, Kuderma C, Apfalter P, Rotter ML, Hirschl AM. Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. J Clin Microbiol 2000; 38: 3710-3714.
4. Braden B, Caspary WF. Detection of *Helicobacter pylori* infection: when to perform which test? Ann Med 2001; 33: 91-97.
5. Ruiz-Bustos E, Ochoa JL, Wadström T, Ascencio F. Isolation and characterisation of putative adhesins from *Helicobacter pylori* with affinity for heparan sulphate proteoglycan. J Med Microbiol 2001; 50: 215-222.
6. Young KA, Akyon Y, Rampton DS, Barton SG, Allaker RP, Hardie JM, Feldman RA. Quantitative culture of *Helicobacter pylori*.

- cobacter pylori* from gastric juice: the potential for transmission. J Med Microbiol 2000; 49: 343-347.
7. Binder HJ. Should we treated *H. pylori* infection to prevent gastric cancer? Gastroenterol 1997; 112: 1044-1050.
8. Fujii R, Morihara F, Oku T, Hifumi E, Uda T. Epitope mapping and features of the epitope for monoclonal antibodies inhibiting enzymatic activity of *Helicobacter pylori* urease. Biotechnol Bioeng 2004; 86: 434-444.
9. Pflock M, Kennard S, Finsterer N, Beier D. Acid-responsive gene regulation in the human pathogen *Helicobacter pylori*. J Biotechnol 2006; 126: 52-60.
10. Severo DO, Wassermann GE, Carlini CR. Ureases display biological effects independent of enzymatic activity. Is there a connection to diseases caused by urease-producing bacteria? Braz J Med Biol Res 2006; 39: 851-861.
11. Sachs G, Scott D, Weeks D, Melchers K. The importance of *Helicobacter pylori*: fact or fiction? Trends microbiol 2001; 9: 532-534.
12. Lamarque D, Peek Jr RM. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2003; 8: 21-30.
13. <http://www.engr.mun.ca/~bkidney/genetics/urease.html>
14. Cussac V, Ferrero RL, Labigne A. Expression of *Helicobacter pylori* urease genes in *Escherichia coli* grown under nitrogen-limiting conditions. J Bacteriol 1992; 174: 2466-2473.
15. Pflock M, Kennard S, Denaly I, Scarlato V, Beier D. Acid-induced activation of the urease promoters is mediated directly by the ArsRS two-component system of *Helicobacter pylori*. Infect Immun 2005; 73: 6437-6445.
16. van Vliet AHM, Kuipers EJ, Stoof J, Poppelaars SW, Kusters JG. Acid-responsive gene induction of ammonia-producing enzymes in *Helicobacter pylori* is mediated via a metal-responsive repressor cascade. Infect Immun 2004; 72: 766-773.
17. McGee DJ, May CA, Garner RM, Himpel JM, Mobley HLT. Isolation of *Helicobacter pylori* genes that modulate urease activity. J Bacteriol 1999; 8: 2477-2484.
18. Yoshiyama H, Nakazawa T. Unique mechanism of *Helicobacter pylori* for colonizing the gastric mucus. Microbes Infect 2000; 2: 55-60.
19. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. N Eng J Med 2002; 347: 1175-1186.
20. Salyers AA, Whitt DD. Bacterial pathogenesis a molecular approach, pp 339-351, Second edition, ASM press, USA (2002).
21. Clyne M, Labigne A, Drumm B. *Helicobacter pylori* requires an acidic environment to survive in the presence of urea. Infect Immun 1995; 63: 1669-1673.
22. Bauerfeind P, Garner R, Dunn BE, Mobley HLT. Synthesis and activity of *Helicobacter pylori* urease and catalase at low pH. Gut 1997; 40: 25-30.
23. Akada JK, Shirai M, Takeuchi H, Tsuda M, Nakazawa T. Identification of the urease operon in *Helicobacter pylori* and its control by mRNA decay in response to pH. Mol Microbiol 2000; 36: 1071-1084.
24. van Vliet AHM, Ernst FD, Kusters JG. NikR- mediated regulation of *Helicobacter pylori* acid adaptation. Trends Microbiol 2004; 12: 489-494.
25. Sachs G, Scott D, Weeks D, Melchers K. Gastric habitation by *Helicobacter pylori*: insights into acid adaptation. Trends Pharmacol Sci 2000; 21: 413-416.
26. Wen Y, Marcus EA, Matrutham U, Gleeson MA, Scott DR, Sachs G. Acid-adaptive genes of *Helicobacter pylori*. Infect Immun 2003; 71: 5921-5939.
27. Park JU, Song JY, Kwon YC, Chung MJ, Jun JS, Park JW, Park SG, Hwang HR, Choi SH, Baik SC, Kang HL, Youn HS, Lee WK, Cho MJ, Rhee KH. Effect of the urease accessory genes on activation of the *Helicobacter pylori* urease apoprotein. Mol Cells 2005; 20: 371-377.
28. Pflock M, Finsterer N, Joseph B, Mollenkopf H, Meyer TF, Beier D. Characterization of the ArsRS regulon of *Helicobacter pylori*, involved in acid adaptation. J Bacteriol 2006; 188: 3449-3462.
29. van Keeken N, van Hattum E, de Boer WA. Validation of a new, commercially available dry rapid urease test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in gastric biopsies. The Netherlands J Med 2006; 64: 329-333.
30. Rautelin H, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2003; 8: 13-20.
31. Herbrink P, Van Doorn LJ. Serological methods for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring of eradication therapy. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 164-173.
32. Li C, Ha T, Ferguson DA Jr, Chi DS, Zhao R, Patel NR, Krishnaswamy G, Thomas E. A newly developed PCR assay of *H. pylori* in saliva supports oral transmission. Dig Dis Sci 1996; 41: 2142-2149.
33. Vaira D, Gatta L, Ricci C, Miglioli M. Review article: diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16(Suppl 1): 16-23.
34. Nakamura RM. Laboratory tests for the evaluation of *Helicobacter pylori* infections. J Clin Lab Anal 2001; 15: 301-307.