

مقایسه نتایج روش الایزا با روشهای هیستوپاتولوژی و باکتریولوژی در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری (H.Pylori) در بیماران مبتلا به اختلالات گاسترواینتستینال

دکتر اکبر میرصالحیان، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر ناصر ابراهیمی دریانی، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر عبدالفتاح صرافنژاد، گروه ایمونولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر حسین رستگاریان، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

Comparison of ELISA and Histopathologic and Bacteriologic Findings in Diagnosis of Helicobacter Pylori in Gastro - Intestinal Disorders ABSTRACT

Helicobacter pylori (H.Pylori) is the most common human infection in the world. This agent has a strong role in pathogenesis of chronic gastritis and peptic ulcer. Therefore introducing of simple and cost effective tests are important for diagnosis of H.Pylori infections. ELISA has been considered as an alternative test compare with biopsy, histological staining, culture and urease test in diagnosis of H.Pylori infection.

In this investigation, 111 patient referred to GI endoscopy department of Imam Khomani Hospitals for U.G.I problems which were evaluated for H.Pylori infection. Culture and histological staining (GIMSA and H & E) were used as a gold standard test compare with ELISA - IgG and urease test. Sensitivity and specificity for ELISA were 90%, 93% respectively. This report suggests that ELISA is a cost effect and valid test in diagnosis of H.Pylori infection.

چکیده

روشهای استاندارد به ترتیب ۹۰٪ و ۹۳٪ تعیین گردید. این مطالعه نشان داد که روش الایزا یک روش مؤثر و با ارزش در تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری می باشد.

کلمات کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، الایزا، زخم دوازدهه، زخم معده، سوء هضم

مقدمه

از سال ۱۹۸۳ پس از گزارش مارشال و وارن (Marshall & Warren) تحقیقات گسترده‌ای در دنیا بر روی H.pylori در زمینه‌های مختلف صورت گرفته است (۱). ضرورت تحقیق در بکارگیری روشهای تشخیصی ساده و آسان که علاوه بر دارا بودن سرعت و دقت عمل، موجب کاهش هزینه‌ها گردد محسوس بوده و

هلیکوباکتر پیلوری میکروارگانیسمی است که به عنوان یکی از عوامل مؤثر در ناراحتیهای دستگاه گوارش نظیر زخم دوازدهه در دهه اخیر مطرح شده است. در راستای بکارگیری روشهای تشخیصی ساده و کم هزینه، استفاده از روش سرولوژی ELISA بعنوان روشی که می تواند جایگزین روشهای دیگر از جمله کشت و آزمایشهای بیوشیمیایی شود، توجه بسیاری از آزمایشگاههای تشخیص طبی را بخود جلب نموده است. به همین دلیل مطالعه‌ای بر روی ۱۱۱ نفر از بیماران مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امام خمینی صورت گرفت. پس از بررسی‌های اولیه از بیماران جهت انجام آزمایش‌های میکروبی، بافت‌شناسی و سرولوژی، نمونه بیوپسی و خون گرفته شد.

در آزمایشی که بر روی کلیه نمونه‌های بیوپسی و سرمی به عمل آمد، حساسیت و ویژگی آزمایش ELISA در مقایسه با سایر

تعیین هویت باکتری که شامل انجام آزمایشات کاتالاز، اکسیداز، اوره‌آز، نیترات، حساسیت به دیسک نالیدیسیک اسید و سفالوتین بود صورت گرفت.

نمونه بیوپسی موجود در فرمالین نیز جهت تهیه برش و رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین، اتوزین و گیمسا مراحل مربوطه را طی نمود.

سرم‌های جدا شده از خون بیماران موجود در فریز 4°C - نیز در گودی‌های پوشیده از آنتی‌ژن با درجه خلوص بالا در پلیت‌های مخصوص از جنس پلی‌استرن قرار داده شد. سپس با افزودن آنتی‌هیومن گلوبولین کونژوگه (در صورت وجود آنتی‌بادی اختصاصی از کلاس IgG در سرم بیماران) کمپلکس آنتی‌ژن - آنتی‌بادی (Ag-Ab) تشکیل می‌گردد. در پایان با افزودن سوپسترا و ایجاد واکنش آنزیمی، در اثر هیدرولیز سوپسترا رنگی حاصل می‌شد که از روی میزان نور جذب شده توسط دستگاه ELISA Reader در طول موج 450 نانومتر قرائت می‌شد.

نتایج

در این بررسی ۱۱۱ بیمار شامل ۶۱ نفر مرد (۵۵٪) و ۵۰ نفر زن (۴۵٪) مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۱). مسن‌ترین فرد در این

جدول ۱- توزیع فراوانی و فراوانی نسبی عفونت هلیکوباکتریلوری بر حسب

گروه‌های سنی

گروه سنی	عفونت		موارد مثبت		موارد منفی		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۱۵-۲۴	۱۲	۹۲٪	۱	۸٪	۱۳	۱۴٪		
۲۵-۳۴	۱۷	۶۸٪	۸	۳۲٪	۲۵	۲۲٪		
۳۵-۴۴	۱۹	۷۶٪	۶	۲۴٪	۲۵	۲۲٪		
۴۵-۵۴	۱۰	۷۶٪	۳	۲۴٪	۱۳	۱۱٫۷٪		
۵۵-۶۴	۱۴	۶۶٪	۷	۳۴٪	۲۱	۱۸٫۸٪		
۶۵ به بالا	۸	۵۷٪	۶	۴۳٪	۱۴	۱۲٫۶٪		
جمع	۸۰	۷۲٪	۳۱	۲۸٪	۱۱۱	۱۰۰٪		

مطالعه ۸۴ سال و جوانترین آنها ۱۵ سال سن داشت. در میان افراد مورد مطالعه ۸۰ نفر آلوده (۷۲٪) و ۳۱ نفر (۲۸٪) فاقد هرگونه آلودگی به H.pylori تشخیص داده شدند (جدول ۲). در مشاهده آندوسکپی، بیماران در ۷ گروه قرار گرفتند که عبارت بودند از

همواره بخشی از تحقیقات را به خود اختصاص داده است. بالا رفتن عیار آنتی‌بادیهای اختصاصی در سرم بیماران آلوده به H.pylori موجب می‌شود استفاده از روشهای سرولوژیک از جمله ایزا به خاطر سرعت، هزینه کم، سادگی و قابلیت تکرار سریعاً جایگزین روشهای تشخیصی دیگر گردد. به این ترتیب استفاده از روش ایزا بجای روش‌های هیستوپاتولوژی و باکتریولوژی (۴،۳،۲) در قالب یک تحقیق مقایسه‌ای مدنظر ما قرار گرفت که حاصل این تلاش مطالعه‌ای است که در ذیل به آن اشاره شده است.

روش و مواد

مواد - شامل محیطهای کشت تیوگلیکولات، کلمبیا آگار به همراه ۱۰٪ خون گوسفند، مکمل‌های انتخابی شامل آنتی‌بیوتیکهای وانکوماسین، تری‌متوپریم، سفالکسین و پلی‌میکسین، محیط اوره، نیترات، معرفهای اکسیداز، کاتالاز و دیسک‌های ۳۰ میکروگرمی سفالوتین و نالیدیسیک اسید، مواد مصرفی در امر تهیه لام پاتولوژی و مواد لازم جهت مطالعه سرولوژی کیت ایزا H.pylori (DAKO) شامل میکروپلیت، کنترل مثبت کالیبراتور سرم انسان و کنترل منفی بود.

روش کار

در این بررسی یکصد و یازده بیمار مبتلا به ناراحتیهای معده - روده‌ای مورد بررسی آندوسکوپی قرار گرفتند. به منظور مقایسه نتایج کشت، هیستوپاتولوژی و سرولوژی در تشخیص عفونت هلیکوباکتریلوری از بیماران سه نمونه بیوپسی از آنتر معده، و نمونه خون گرفته شد. نمونه اول به محیط تیوگلیکولات جهت کشت باکتری انتقال یافت. نمونه دوم جهت مطالعه هیستوپاتولوژی در فرمالین ۱۰ درصد و نمونه سوم جهت آزمایش اوره‌آز سریع در محیط حاوی اوره قرار گرفت. خون بیماران مذکور نیز پس از لخته شدن، سانتریفوژ و سرم آن جهت آزمایش ایزا در سرمای 4°C - درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

با رعایت موازین استاندارد، نمونه بیوپسی موجود در محیط تیوگلیکولات توسط گریندر (grinder) به شیرابه یکنواختی تبدیل و به محیط کشت جامد کلمبیا آگار حاوی ۱۰٪ خون گوسفند انتقال یافت و سپس آنرا در شرایط میکروآنروبیلیک به مدت ۳ تا ۵ روز در انکوباتور 37°C سانتی‌گراد قرار دادیم. پس از این مدت در صورت وجود هرگونه پرگنه شفاف به قطر یک تا دو میلی‌متر، مراحل بعدی

بحث

جدول ۲- توزیع فراوانی و فراوانی نسبی هلیکوباکتریلوری بر حسب جنس

جنس	عفونت		موارد مثبت		موارد منفی		جمع	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
مرد	۳۸	۶۲٪	۲۳	۳۸٪	۶۱	۵۵٪		
زن	۴۲	۸۴٪	۸	۱۶٪	۵۰	۴۵٪		
جمع	۸۰	۷۲٪	۳۱	۳۸٪	۱۱۱	۱۰۰٪		

بیماران مبتلا به سوء هضم (۳۹/۵٪)، بیماران مبتلا به گاستریت (۱۳/۵٪)، بیماران مبتلا به دژودنیت (۱۱/۷۵٪)، بیماران مبتلا به گاستروژودنیت (۰/۰۴٪)، بیماران مبتلا به زخم معده (۱۱/۷۵٪)، بیماران مبتلا به زخم دوازدهه (۱۱/۷۵٪) و بیماران مبتلا به کانسر

جدول ۳- توزیع فراوانی و فراوانی نسبی مشاهدات اندوسکوپی ۱۱۱ بیمار مورد

مطالعه و شیوع عفونت هلیکوباکتریلوری در بین آنها

مشاهدات آندوسکوپی	عفونت H.Pylori		الیزا مثبت	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
دیسپپسیا	۴۴	۳۹/۶٪	۲۷	۶۱/۴٪
دژودنیت	۱۳	۱۱/۷٪	۸	۶۱/۵٪
اولسردژودنال	۱۳	۱۱/۷٪	۱۱	۸۴/۶٪
گاستریت	۱۵	۱۳/۵٪	۶	۴۰٪
گاستروژودنیت	۵	۰/۴٪	۴	۸۰٪
اولسر معده	۱۳	۱۱/۷٪	۱۲	۹۲/۳٪
کانسر	۸	۷۰٪	۳	۳۷/۵٪

(۰/۰۷٪). عفونت در بیماران مبتلا به زخم دوازدهه (۱۰۰٪) از بالاترین رقم آلودگی و ابتلا به کانسر معده (۰/۰۷٪) از کمترین رقم آلودگی برخوردار بوده است. ضمناً همین جدول ارزش آزمایش الایزا در هر یک از بیماران آلوده به هلیکوباکتر را نشان می دهد. در آزمایشهایی که جهت تعیین هویت H.pylori بر اساس کشت و آزمایش های بیوشیمیایی، آزمایش اوره آزه، آزمایش بافت شناسی و مقایسه آنها با آزمایش الایزا به عمل آمد (جدول ۴، ۵، ۶) ضمن آنکه می بایستی همچنان بر ارزش ویژگی کشت، لام مستقیم، آزمایش اوره آزه و رنگ آمیزیهای بافت شناسی در شناسایی این باکتری تأکید نمود، می توان از آزمایش الایزا با توجه به حساسیت نسبتاً بالا و دلایلی که در آغاز به آنها اشاره شد، به عنوان جایگزین مناسبی در شناسایی آلودگی های ناشی از این باکتری استفاده کرد. ضمناً همان طور که در جدول ۷ آمده است ارتباط معنی داری بین تعداد باکتری در لام مستقیم و مثبت شدن آزمایش الایزا مشاهده گردید.

امروزه ارتباط میان هلیکوباکتریلوری با گاستریت، زخم معده و اثنی عشر کاملاً پذیرفته شده و در صورت ریشه کنی آن به وضوح از عود اولسر کاسته خواهد شد (۷).

همچنین هلیکوباکتریلوری به عنوان ریسک فاکتور ابتلا به سرطان معده قلمداد شده و ۵٪ بیماران مبتلا به Dyspepsia یا درمان هلیکوباکتریلوری بیمارشان بهبود می یابند (۸، ۹).

روشهای آزمایشگاهی متعددی که جهت تشخیص عفونت هلیکوباکتریلوری وجود دارد، به طور عمده به دو گروه: ۱- روشهای Invasive که متضمن انجام عمل اندوسکوپی بوده و ۲- noninvasive که نیازمند انجام اندوسکوپی برای نمونه برداری نمی باشد تقسیم می شوند. با وجودی که در مورد عفونتهای میکروبی، کشت به علت حساسیت عالی و ویژگی کامل به عنوان روش استاندارد طلایی در تشخیص کاربرد دارد، لکن در مورد هلیکوباکتریلوری تأخیر در رشد باکتری و در بعضی مواقع رشد بیش از حد فلور نورمال به خصوص در هنگام کاهش اسیدیتبه نفعده و اشکالات تکنیکی مربوط به نمونه برداری و نبودن محیط کشت اختصاصی، باعث کاهش کارایی کشت در تشخیص عفونت می گردد. لذا اکثر محققین در حال حاضر ترجیح می دهند از چندین روش بصورت توأم استفاده نمایند. در این مطالعه حساسیت کشت ۷۶/۳٪ و ویژگی آن ۱۰۰ درصد بود که با نتایج سایر محققان که حساسیت کشت را ۹۰-۵۰ درصد ذکر کرده اند مطابقت دارد. بالا بودن حساسیت کشت در مطالعه ما می تواند به علت استفاده از محیط کشت تازه و انکوباسیون در شرایط میکروآئروفیلیک قبل از استفاده از آن باشد (۲۴، ۲۵).

در این بررسی میزان حساسیت تست اوره آزه ۸۲/۵ درصد بوده که با نتایج سایرین که میزان حساسیت را ۸۶ تا ۹۷ درصد گزارش کرده اند تطابق دارد.

ضمناً در این مطالعه حساسیت آزمایش هیستولوژی نمونه بیوپسی با رنگ آمیزی گیمسا ۹۷٪ و با رنگ آمیزی هماتوکسلین اتوزین ۸۷/۵٪ بود که این نتایج با گزارشات سایر محققین که حساسیت تشخیص هیستولوژیکی عفونت هلیکوباکتریلوری را ۹۹-۹۳٪ ذکر نموده اند مطابقت دارد (۱۰، ۱۲).

در این بررسی میزان حساسیت و ویژگی آزمایش الایزا به ترتیب ۹۰٪ و ۹۳٪ بوده است که با نتایج سایر محققین که حساسیت و ویژگی این آزمایش را به ترتیب ۹۳٪ تا ۹۵٪ (Goossen - SH et al)، ۹۴٪ تا ۹۶٪ (Tall ey - NJ)، ۹۰٪ تا ۱۰۰٪ (Buchvald -D)، ۵۹٪ تا ۷۴٪ (Taha - AS)، ۷۳٪ تا ۹۱٪ (Westblom et al)، ۹۶٪ تا ۹۷٪ (chongine - et al)، ۸۸٪ تا ۹۲٪ (Pronorest -AD et al)، ۷۲٪ تا ۸۱٪ (Line.E et al) ذکر نموده اند مطابقت دارد (۲۳، ۱۴) (جدول ۸). همچنین در مقایسه ای که بین روش الایزا و سایر روشهای تشخیص

(P = ۰/۰۰۱) (جدول ۶).

اعم از اوره‌آز و رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین اتوزین و رنگ‌آمیزی صورت گرفت همخوانی نزدیکی بین این روشها وجود داشت

جدول ۴- حساسیت و ویژگی تعیین هویت هلیکوباکتریلوری در روشهای مختلف تشخیص آزمایشگاهی

نوع آزمایش	الیزا		کشت		اوره‌آز		رنگ‌آمیزی مستقیم		کیمسا		H & E	
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی
وجود	۷۲	۸	۶۱	۱۹	۶۶	۱۴	۶۸	۱۲	۷۸	۲	۷۰	۱۰
عدم وجود	۲	۲۹	۰	۳۱	۱	۳۰	۱	۳۰	۰	۳۰	۰	۳۱

۴۲ نفر آلوده به هلیکوباکتر بودند (۸۴٪). در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین جنسیت و آلودگی مشاهده نمی‌گردد که با گزارشات سایرین توافق دارد (جدول ۲).

جدول ۵- خلاصه‌ای از مقایسه نتایج مختلف آزمایشگاهی در بین بیماران

نوع آزمایش	کشت	اوره‌آز	هیستولوژی	الیزا	تعداد بیمار
+	+	+	+	+	۵۱
-	-	-	-	-	۲۷
+	-	+	+	+	۹
-	-	-	+	+	۵
-	+	+	+	+	۵
+	-	-	+	+	۴
+	+	-	+	+	۴
+	-	-	-	+	۲
-	-	+	-	-	۱
+	+	+	-	+	۱
-	-	-	-	-	۱
-	-	-	+	-	۱

همانگونه که اشاره گردید کلیه روشهای مذکور از حساسیت و ویژگی نسبتاً مناسبی جهت تشخیص عفونت هلیکوباکتریلوری برخوردار می‌باشند و در اکثر موارد نتایج روشهای فوق از توافق خوبی برخوردارند، منتها روش الیزا به علت سهولت انجام، امکان تکرار و همچنین مقرون به صرفه‌تر بودن بر سایر روشها ارجحیت دارد، لذا ELISA-IgG به منظور غربالگری سرولوژیک نیز از دقت کافی برخوردار بوده و برای بررسی بیماران مبتلا به سوء هضم از نظر خطر بروز زخم معده مفید تشخیص داده می‌شود.

ضمناً نشان داده شد که بین پاسخ مثبت و منفی الیزا و تعداد باکتری ارتباط معنی‌دار وجود دارد، که این می‌تواند نشانگر نقش تعداد باکتریها در افزایش تیتراژ آنتی‌بادی اختصاصی در سرم خون افراد آلوده باشد (جدول ۷).

همانگونه که اشاره شد ۷۲٪ از بیماران مورد مطالعه وجود هلیکوباکتریلوری را نشان دادند که تقریباً با شیوع عفونت در کشورهای در حال توسعه مطابقت دارد.

میانگین سن بیماران مورد مطالعه در این بررسی با میانگین سن ابتلا در کشورهای در حال توسعه تطابق دارد. در کشورهای پیشرفته آلودگی در سنین بالاتر و در کشورهای در حال توسعه در تمام دوره‌های سنی و حتی سنین پایین رو به فزونی است (جدول ۱).

در ارتباط با جنس از ۶۱ بیمار مرد ۳۸ نفر (۶۳٪) و از ۵۰ بیمار زن

جدول ۶- مقایسه موارد مثبت و منفی روشهای مختلف آزمایشگاهی در ارتباط با تعیین هویت باکتری

الیزا	سایر روشها		کشت		اوره‌آز		H.E		کیمسا		رنگ‌آمیزی	
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی
موارد مثبت	۵۶	۱۵	۶۱	۱۰	۶۱	۱۰	۶۸	۳	۶۸	۶۱	۱۰	
موارد منفی	۵	۳۵	۶	۳۴	۹	۳۱	۱۰	۲۹	۸	۳۲		

جدول ۸- مقایسه نتایج گزارش تشخیص هلیکوباکتر پیلوری به روش الیزا

ویژگی	حساسیت	سال گزارش	نام محقق
%۷۲	%۸۱	۱۹۹۵	Lin.E et al
%۸۸	%۹۲	۱۹۹۴	Pronost - AD et al
%۹۷	%۹۶	۱۹۹۳	Debondgnie et al
%۷۳	%۹۱	۱۹۹۳	Westblom et al
%۵۹	%۷۴	۱۹۹۳	Taha - AS et al
%۹۰	%۱۰۰	۱۹۹۳	Buchvald - D
%۹۴	%۹۶	۱۹۹۲	Talley - NJ
%۹۵	%۹۳	۱۹۹۱	Goossen - SH et al
%۹۳	%۹۰	۱۹۹۶	مطالعه ما

جدول ۷- توزیع فراوانی نتایج آزمایش الیزا برحسب تعداد باکتری

در آزمایش مستقیم

تعداد باکتری	الیزا	مثبت	منفی
منفی		۱۱	۳۱
+۱		۳۷	۵
+۲		۱۷	۲
+۳		۷	۱

منابع

- Vaira D, Holton J, Miglioli M, et al. Helicobacter Pylori and other spinal organisms in gastroduodenal disease. *Curr opin Gastroenterol* 1992; 8: 918-26.
- Soll AH. Gastric, duodenal and stress ulcer. Sleisenger, Fordran J, *Gastrointestinal disease*. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993: 560- 579.
- Graham DY. Campylobacter pylori and peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 1989; 95-96: 615-25.
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et al. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl. J. Med.* 1991; 325(16): 1127-31.
- McNulty CAM, Dent JC, Uff JS, Gear WL, Wilkinson SP. Detection of camylobacter pylori byrthe biopsy urease test: An assessment in 1445 pstients. *Gut* 1993; 30: 1058-62.
- Megraud F. Epidemiology of Helicobacter pylori infection. In: Dooly CP, Cohen H, e *Gastroduodendental disease*. *Curr opin Gastroenterol* 1993; 22: 73-88.
- Noach LA, Tytgat GNI. Helicobacter pylori infection. Aspects of pathogenesis and therapy (Tesis) Asterda, 1993, 168, pp.
- Westblom TU, Midkiff BR, Czinn SJ. In vitro suscepibility of Helicobacter pylori to trospectoycin, pirlimycin (U - 57930E), micincamycin (U-24729A), and N - demethyl clindamycin (U - 26767A). *Eur J Clin Microbial Infect Dis* 1993; 12: 560-2.
- Westblom TU Unge P. Drug resistance of Helicobacter pylori: memorandum from a eeting at the Sixth Interntional Workshop on Campilobacter, Helicobacter, and Related Oranisms. *J Infect Dis* 1992; 165: 974-5.
- Graham DY, HE, Evans DJ, Klein PD, Adam E. Epidemiology of Helicobacter pylori infection in an asymptomatic population in the United states. *Gastroenterology* 1991; 100: 1495-501.
- Talley NJ, Kost L, Haddad A, Zinsmeister AR. Comparison of commerical Serlogical tests for detection of Helicobacter pylori antibodies. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3146-50.
- Perez - Perez GI, Dwoekin BM, Chodos JE, Blaser MJ. Campylobacter pylori antibodies in humans. *Ann Intern Med* 1988; 11-6.
- Vandenplas Y Blecker U Devreker T, Keppens E, et al. Contribution of the 13 C-urea breath test to the detection of Helicobacter pylori gastritis in children. *Pediatrics* 1992; 90: 608-11.
- Goodwin CS, Blincow E, Paterson G, et al. Enzyme - linked immunosorbent assay for campylobacter pylori Correlation with presence of C. Pyloridis in the gastric mucosa. *J Infect Dis* 1987; 155: 488-94.
- Dent JC, McNulty CAM, Uff JS, Gear MWL, Wilkinson SP. Campylobacter pylori Urease : a new Serological test. *Lancet* 1988; 1: 1002.
- Perez - Perez GI, Dwoekin BM, Chodos J, Blaser MJ. Campylobacter pylori antibodies in humans. *Ann Intern Med* 1988; 109 : 11-7.
- ??ans DJ, Evans DG, Graham DY, Klein PD. A Sensitive and specific serologic test for detection of C.Pylori infection *Gastroenterology* 1989; 96: 1004-8.
- Doyle J, Evans, Jr., Dolores G, Evans, David Y, Graha, and peter D. Klein. A Sensitive and specific serologic test for Detection of campylobacter pylori infection *Gastroenterology* 1989; 96: 1004-8.
- Wirschl A, Rathbone BJ, Wyatt, Berger J, Roster ML. Comparison of Elia antigen preparation alone or incubation for serodiagnosing Helicobacter pylori infections. *J. Clin pathol* 1990; 43: 511-3.
- JE Vrabtree, TA shallcross, RV Healthy, J I Wyatt Evaluation of a Commercial Elisa for serodiagnosis of H.Pylori infection *J Clin pathol* 1991; 44: 326-328.
- Talley - NJ Comparison of commerwal serological tests for detection of H.pylori antibody & 1992 *J of clinical Microbiology*. 30: 3146-50.
- Westblom Evaluation of Quickua, arpicl enzyme immunoassay

- test for the detection serum antibodies Diagnostic Microbiology infection Disease 1993; 16: 317-320.
- 23- Pronorest. AD Evaluation of a new immunodiagnostic assay for H. pylori antibody detection. 1994 J of Clinical Microbiology, Vol 32(1) NO: 46-50.
۲۴. ارتباط کمیته کتریلوری با کمپاربت درمان و اوتسرهای پیشک مجله دارو درمان خرداد سال ۱۳۷۱ نویسنده این مقاله
۲۵. ارتباط هلیکوباکتریلوری با هیپرپلازی نفوذلولار معده در کودکان مجله دانشکده پزشکی شماره ۳ و ۴ سال ۱۳۷۳ نویسنده این مقاله