بررسی قدرت دو آزمایش Whole - Cell Elisa و HM-Cap Elisa در تشخیص عفونت‌های ناشی از هلیکوباکترپیلوری

دکتر سید علی فاضلی [*] ، محمدرضا نفیسی [**] ، دکتر کامبیز حاذقی [*]

دکتر احمد قوامی نژاد [***]

خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به کاربرد روش‌های متعدد در تشخیص عفونت‌های ناشی از هلیکوباکترپیلوری و با عنایت به مقبولیت روش‌های غیرتهاجمی از جمله آزمایش‌های سرولوژیک و وجود گزارش‌های متناقض در قدرت تشخیصی این آزمایش‌ها و به منظور تعیین حساسیت و ویژگی دو آزمایش Whole - Cell Elisa و HM-Cap Elisa ، این تحقیق بر روی مراجعه‌کنندگان به بخش اندوسکوپی بیمارستان الزهراء و فیض اصفهان طی سال ۱۳۷۵ انجام گرفت.

مواد و روشها: پژوهش به روش کارآزمایی بالینی (Clinical trial) و از نوع تشخیصی بر روی ۱۶۸ بیماری که با شکایت دستگاه گوارش فوقانی مراجعه کرده و اندیکاسیون اندوسکوپی داشتند، صورت پذیرفت. خصوصیات سن ، جنس، علایم بالینی در فرم اطلاعاتی ثبت و پس از انجام آندوسکوپی بیوپسی برداشت شده جهت بررسی‌های میکروب‌شناسی و بافت‌شناسی به آزمایشگاه ارسال و از هر فرد ۴ سی سی خون وریدی گرفته تا بررسی‌های مرفولوژیک به عمل آید. نتایج کشت، بافت‌شناسی و سرولوژی در فرم اطلاعاتی ثبت گردید. داده‌های فرم اطلاعاتی طبقه‌بندی و میزان حساسیت، ویژگی ، پیش‌بینی مثبت و منفی و کارآیی کلی آزمایش‌های سرولوژیک در مقایسه با استاندارد طلایی (کشت و بافت‌شناسی) تعیین گردید.

یافته‌ها: از ۶۸ بیمار مورد بررسی، ۸۳ نفر (۴۹/۴ درصد) زن و ۸۵ نفر (۵۰/۶ درصد) مرد با میانگین سنی ۴۴/۸ سال بودند. از کل افراد مورد بررسی ۱۲۳ نفر (۷۳/۲ درصد) هلیکوباکترپیلوری مثبت می‌باشند که بیشترین موارد با ۴۲/۲ درصد در گروه سنی ۶۰-۴۰ سال ملاحظه شد. بیشترین علت مراجعه با ۴۷ درصد گاستریت بود. حساسیت و ویژگی آزمایش Whole cell Elisa به ترتیب ۸۹/۴ درصد، ۷۵/۶ درصد و کارآیی کلی آن ۸۵/۷ درصد و در مورد HM Cap Elisa به ترتیب ۹۵/۱ درصد ، ۹۳/۳ درصد و ۹۴/۶ درصد می‌باشد.

نتیجه گیری: آزمایش HM Cap Elisa در تشخیص عفونت ناشی از هلیکوباکترپیلوری معتبرتر می‌باشد و با توجه به سهولت انجام و ارزان بودن، کاربرد آن توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: Whole Cell Elisa ، HM Cap Elisa ، هلیکوباکترپیلوری، دستگاه گوارش فوقانی

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی اصفهان ، گروه باکتری و ویروس شناسی

** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی شهرکرد، گروه میکروب شناسی

** دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی اصفهان، گروه ایمنی‌شناسی

مقدمه

ناراحتی‌های دستگاه گوارش فوقانی یک مشکل جهانی است به طوری که سالانه بودجه هنگفتی از طرف سازمان‌های بهداشتی و درمانی صرف هزینه‌های دارویی ، معاینات پزشکی و از دست رفتن نیروی کار می‌شود (۱). یک عامل مهم ناراحتی‌های دستگاه گوارش فوقانی هلیکوباکترپیلوری می‌باشد که یک باکتری گرم منفی ، عمدتاً خمیده‌ای شکل، متحرک و با فعالیت شدید تجزیه اوره ، تولید کاتالاز و اکسیداز می‌باشد. این ویژگی‌ها برای تعیین هویت باکتری مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). دو محقق استرالیایی به نام‌های Marshall و Warren ارتباط این باکتری را با گاستریت نوع B که قبلاً ایدیوپاتیک پنداشته می‌شد ، نشان دادند (۵،۴،۳). گاستریت مزمن فعال می‌تواند پیش درآمد کارسینومای معده باشد(۷،۶). تشخیص و درمان هرچه سریع‌تر عفونت‌های ناشی از هلیکوباکترپیلوری بویژه در اطفال از شدت و عواقب بعدی آن می‌کاهد. زیرا پیامدهای خطیر بیماری با کسب عفونت در سنین پایین در ارتباط است (۸). از این جهت، استفاده از راه‌های تشخیص غیرتهاجمی عفونت، امکان تحقیقات گسترده‌ای را در بین جمعیت‌های گوناگون فراهم می‌سازد. آزمایش‌هایی نظیر بررسی‌های بافت‌شناسی، کشت و آزمایش مستقیم رنگ آمیزی گرم به عنوان آزمایش‌های استاندارد طلایی تلقی می‌شوند، زیرا فاقد جواب‌های مثبت کاذب بوده و از این جهت ویژگی‌های آن صد درصد می‌باشد (۹). در بررسی‌های اپیدمیولوژیک و هم‌چنین در تحقیقاتی که بر روی جمعیت‌های وسیع از جامعه باید انجام گیرد، روش‌های تهاجمی مورد قبول عامه مردم نیستند. بنابراین، توجه محققان به روش‌های غیرتهاجمی معطوف گردیده است و در این مورد به صورت عمده در روش آزمایش تنفسی و سرولوژی پیشنهاد شده است.

Crabtree تفاوت تیتر آنتی‌بادی علیه باکتری را در افرادی که از نظر هلیکوباکترپیلوری منفی بودند با بیماران مبتلا نشان داد (۱۰). هم‌چنین Rathbone تیتر آنتی‌بادی‌های IgG، IgA و IgM را در افراد آلوده به هلیکوباکترپیلوری با افراد منفی مقایسه کرد و تفاوت‌های معنی‌داری را در تیتر IgG و IgA دو گروه مزبور ملاحظه نمود (۱۱) امّا روش‌های آگلوتیناسیون ، ثبوت مکمل و ایمونوفلورسانس برای ردیابی آنتی‌بادی‌های علیه این باکتری غیرحساس هستند و از این جهت به روش‌های با حساسیت بالا نظیر سنجش ایمنی به روش اتصال آنزیمی (Elisa) توجه شده است. در این روش به منظور تشخیص هلیکوباکترپیلوری از آنتی‌ژن‌های مختلف از قبیل آنتی‌ژن‌های تام باکتری در آزمایش‌های نسل اول و آنتی‌ژن‌های خالص شده باکتری در آزمایش‌های نسل دوم، استفاده می‌گردد. به علت وجود واکنش‌های تقاطعی بین این باکتری و سایر باکتری‌ها به خصوص کمپیلوباکتر ججونی ، جواب‌های مثبت کاذب در آزمایش‌های نسل اول مشاهده می‌شوند (۱۲). از این جهت با استفاده مناسب آنتی‌ژن پوشش دهنده پلیت‌های میکروتیتر ، می‌توان ویژگی آزمایش Elisa را در تشخیص عفونت‌های هلیکوباکترپیلوری افزایش داد. از این رو، به منظور تعیین قدرت دو آزمایش Whole Cell Elisa و HM Cap Elisa در تشخیص هلیکوباکتر، این تحقیق بر روی مراجعه کنندگان به بیمارستان‌های الزهرا و فیض اصفهان طی سال ۱۳۷۵ انجام گرفت.

مواد و روشها

پژوهش حاضر با روش کارآزمایی بالینی (Clinical trial) و از نوع تشخیصی (Diagnostic) با نمونه‌گیری به روش مستمر بر روی ۱۶۸ بیماری که با شکایت دستگاه گوارش فوقانی به بخش اندوسکوپی مراجعه کرده بودند صورت پذیرفت. پس از توجیه طرح و

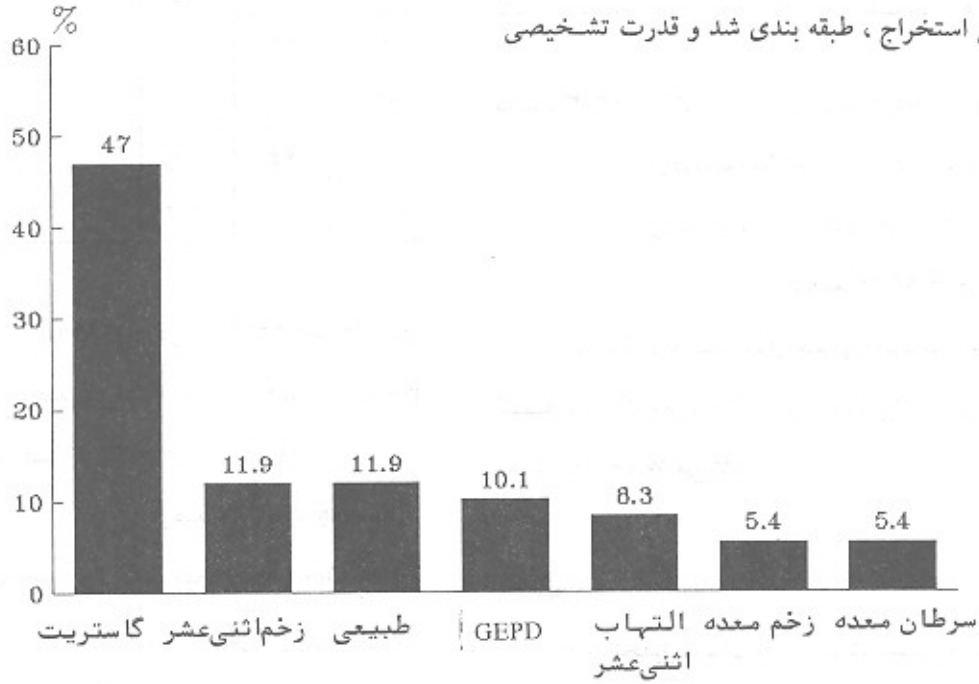
جلب همکاری بیماران فرم اطلاعاتی که در آن خصوصیاتی از قبیل سن، جنس ، علایم بالینی و علت مراجعه مورد بررسی قرار گرفته بود تکمیل گردید و شرح حال بالینی توسط پزشک متخصص دستگاه گوارش گرفته شد. در روز اندوسکوپی در حالی که بیمار ناشتا بود، ۰/۵ میلی‌گرم آتروفین و ۵ میلی‌گرم دیازپام به صورت وریدی تزریق گردید و قبل از این که فیبر نوری دستگاه آندوسکوپ وارد معده بیمار شود از آمپول گزیلوکایین به عنوان بی‌حس کننده موضعی دهان و حلق استفاده گردید. بررسی اندوسکوپی توسط پزشک متخصص دستگاه گوارش با فیبروسکوپ اولمپیوس انجام گردید و وضعیت آن گزارش شد و با استفاده از فورسپس مخصوص از درون ناحیه انتروتوم (۳ تا ۵ سانتی‌متری پیلور) دو قطعه بیوپسی جهت بررسی‌های میکروب شناسی برداشته می‌شد و به محیط ترانسپورت سالین تلقیح گردید. هم‌چنین دو الی سه قطعه از مناطق آنتروم و تنه برای بررسی‌های بافت‌شناسی برداشته شد و به لوله حاوی فرمالین ۱۰ درصد تلقیح گردید و به آزمایشگاه پاتولوژی انتقال یافت. محیط‌های ترانسپورت را در فلاسک حاوی یخ قرار داده ، به سرعت به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده پزشکی منتقل می‌شد. هم‌چنین از هر بیمار ۴ میلی‌لیتر خون وریدی گرفته و در آزمایشگاه و در ۳۰ درجه سانتی‌گراد تا انجام بررسی‌های سرولوژی نگه‌داری می‌گردید. نمونه‌های بیوپسی در آزمایشگاه میکروب‌شناسی له شده و به صورت سوسپانسیون تقریباً یکنواخت درمی‌آورند تا به محیط فوندار (oxoid) BHIA حاوی آنتی‌بیوتیک‌های Skirrow (Merck) تلقیح گردند (۱۳). انکوباسیون محیط‌های کشت در شرایط میکروائروفیل (HARI) Anoxomat system و ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. لام‌های مستقیم به روش‌های اصلاح شده گرم و گیمسا رنگ آمیزی گردیدند. به منظور دست یابی به تعداد زیادی سلول، پنج ایزوله خالص باکتری را به طور تصادفی انتخاب کرده و پس از تعیین هویت با انجام آزمایش‌های اوره آزتالاز ، اکسیداز ، واکنش گرم و بررسی شکل شاخص باکتری بر روی محیط BHJB (Oxoid) حاوی ۵ درصد سرم الب (تهیه شده در موسسه دارویی حصارک) و ۲ درصد سرم گوساله جنینی (تهیه شده در دانشکده دامپزشکی تهران) کشت مجدد داده شوند. انکوباسیون در شرایط میکروآئروفیل و انکوباتور شیکردار و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ روز انجام گرفت. سلول‌های باکتری با PBS و سانتریفوژ یخچال‌دار (HJTACHI 20PR) با دور ۸۰۰۰ rpm و مدت ۱۲ دقیقه ، دوبار شسته شدند. از ته نشین سلولی مذکور و بافر PBS غلظتی برابر با لوله شماره ۷ HC Farland تهیه گردید و با کمک دستگاه اولترا سونیکاتور مدل MSB و به طور متناوب ۱۰ دقیقه با شتاب ۲۰۰۰۰ Hz آنتی‌ژن‌های تام باکتری به دست آمدند. دترجنت (Merck) NOG برای استخراج پروتئین‌های HM-CAP به کار رفت. ته‌نشین سلولی باکتری را با غلظت ۱ درصد دترجنت به صورت سوسپانسیون درآورده و پس از ۲۰ دقیقه نگه‌داری در حرارت اتاق به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ rpm در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد . بدین ترتیب مایع رویی که حاوی پروتئین‌های متصل به غشای باکتری است از بقایای سلولی جدا گردید (۱۳). برای تخلیص اوره‌آز از عصاره تغلیظ شده فوق - ژل فیلتراسیون بر روی ستونی به ابعاد ۱/۶×۷۰ سانتی‌متر (Pharmacia) و ژل سفاکریل HR (Sigma) ۳۰۰ با به کار بردن بافر تریس ۰/۰۵ مول با PH=8 انجام گرفت. فراکسیون‌های مختلف در حجم‌های ۲/۵ سی‌سی جمع آوری شدند و میزان پروتئین آنها با استفاده از طول موج ۲۸۰ نانومتر به طریق اسپکتروفتومتری تعیین گردید (۱۳) که در مجموع ۳ قله پروتئینی در فراکسیون‌های ۱۵ تا ۱۷ ، ۳۱ و ۴۱ ملاحظه

شد. برای استاندارد کردن آزمایش الیزا از این پروتئین‌ها به عنوان آنتی‌ژن استفاده گردید. بدین منظور Checker board مربوط به آنتی‌ژن HM-Cap و آنتی‌ژن تام باکتری تهیه شد. بدین ترتیب غلظت‌های مختلف آنتی‌ژن و رقت‌های متفاوت آنتی‌بادی کنژوگه (anti human IgG-HRP) به طور تقاطعی با یکدیگر برخورد داده شدند (۱۴) تا غلظت مناسب آنتی‌ژن و رقت مناسب آنتی‌بادی کنژوگه تعیین گردد. سوش‌های مورد بررسی و سرم‌های شاهد مثبت و منفی به نسبت $\frac{1}{100}$ رقیق شدند و برای انجام مراحل مختلف ELisa از روش‌های استاندارد استفاده گردید (۱۴). کلیه آزمایش‌های میکروب شناسی و سرم شناسی توسط متخصص میکروب شناسی انجام گرفت و یافته‌های آن در فرم اطلاعاتی ثبت گردید . در این بررسی مواردی که حداقل یکی از آزمایش‌های مورد بررسی بافت‌شناسی ، کشت و یا رنگ‌آمیزی گرم مثبت شوند از نظر عفونت به هلیکوباکترپیلوری مثبت تلقی می‌گردیدند . بنابراین، آزمایش‌های مزبور به عنوان استاندارد طلایی محسوب می‌شوند. داده‌های فرم اطلاعاتی استخراج ، طبقه بندی شد و قدرت تشخیصی دو آزمایش با شاخص‌های حساسیت (Sensitivitg) ، ویژگی (Specifity) ، ارزش پیش‌بینی مثبت (Positive predicticve value) و ارزش پیش‌بینی منفی (Negative predictive value) و کارآیی کلی (Efficiency) تعیین گردید.

یافته‌ها

از ۱۶۸ فرد مورد بررسی، ۸۳ نفر (۴۹/۴ درصد) زن و ۸۵ نفر (۵۰/۶ درصد) مرد بودند. محدوده سنی بیماران از ۱۱ تا ۸۴ سال و به طور متوسط ۴۴/۸ سال بود. از مجموع افراد بررسی‌شده، ۱۲۳ نفر (۸۷۳/۲ درصد) آلوده به H.Pylori بودند که از این تعداد، ۶۱ نفر (۷۳/۵ درصد) از زنان و ۶۲ نفر (۷۲/۹ درصد) از مردان می‌باشند.

پاسخ آندوسکوپی بیماران در نمودار (۱) ارایه گردید و نشان می‌دهد که گاستریت برای ۷۹ بیمار (۴۷ درصد) تشخیص داده شد و زخم اثنی عشر و وضعیت طبیعی برای ۲۰ نفر (۱۱/۹ درصد) و کمترین آن برای ۹ بیمار سرطان معده و زخم معده بود.



نمودار ۱ـ توزیع تشخیص آندوسکوپی در ۱۶۸ بیمار مبتلا به بیماریهای دستگاه گوارش فوقانی در بیمارستان‌های الزهرا و فیض اصفهان طی سال ۱۳۷۵

وضعیت افراد مورد بررسی با دو روش تشخیصی Whole Cell Elisa و استاندارد طلایی در جدول (۱) ارایه گردیده است و نشان می‌دهد روش Whole Cell در ۷۲ درصد بیماران و روش طلایی، ۷۳/۲ درصد بیماران را مبتلا به هلیکوباکتر تعیین کرده‌اند و اگر روش Whole Cell اعلام کند فرد مبتلا به هلیکوباکتر است با احتمال ۹۱ درصد فرد مبتلا می‌باشد و اگر اعلام کند فرد مبتلا نیست با احتمال ۷۲ درصد فرد سالم و یا با احتمال ۲۸ درصد فرد ممکن است بیمارباشد.

جدول ۱ـ قدرت Whole Cell Elisa در تشخیص بیماری‌های ناشی از H.Pylori در بیمارستان‌های الزهرا و فیض اصفهان طی سال ۱۳۷۵

استاندارد طلایی / Whole Cell Elisa	مثبت	منفی	جمع
مثبت	۱۱۰	۱۱	۱۲۱ (۷۲)
منفی	۱۳	۳۴	۴۷ (۲۸)
جمع	۱۲۳ (۷۳/۲)	۴۵ (۲۶/۸)	۱۶۸ (۱۰۰)

Specifity= ۷۵/۶ درصد Sensitivity= ۸۹/۴ درصد

Positive predictive value = ۹۰/۹ درصد

Negative predictive value = ۷۲/۳ درصد

Efficiency = ۸۵/۷ درصد

هم‌چنین دو روش تشخیصی HM Cap Elisa و استاندارد طلایی بیانگر آن است که اگر این روش اعلام نماید فردی مبتلا به هلیکوباکتر است بااحتمال ۹۷/۵ درصد فرد مبتلا و اگر اعلام نماید که فرد مبتلا به هلیکوباکترنیست بااحتمال ۸۷/۵درصدفردمبتلا نمی‌باشد (جدول ۲).

با بررسی میکروسکوپی نوری نمای کلی استخوان‌های قلبی، هر دو بافت استخوانی و غضروفی در کنار هم مشاهده می‌شود و در بخش میانی بافت استخوانی فضای مرکزی نسبتاً وسیع حاوی مغز استخوانی وجود دارد (شکل ۱).

جدول ۲ـ قدرت HM Cap Elisa در تشخیص بیماری‌های ناشی از H.Pylori در بیمارستان‌های الزهرا و فیض اصفهان طی سال ۱۳۷۵

استاندارد طلایی / HM Cap Elisa	مثبت	منفی	جمع
مثبت	۱۱۷	۳	۱۲۰
منفی	۶	۴۲	۴۸
جمع	۱۲۳	۴۵	۱۶۸

Specifity= ۹۳/۳ درصد Sensitivity= ۹۵/۱ درصد

Positive predictive value = ۹۷/۵ درصد

Negative predictive value = ۸۷/۵ درصد

Efficiency = ۹۴/۶ درصد

با مقایسه یافته‌های مذکور مشاهده می‌گردد که قدرت HM Cap Elisa بیشتر از قدرت روش Whole Cell Elisa می‌باشد.

بحث

این تحقیق نشان داد آزمایش سرولوژیک HM Cap Elisa در تشخیص عفونت‌های ناشی از هلیکوباکترپیلوری نسبت به Whole Cell Elisa دارای

حساسیت (Sensitivity) و ویژگی (Specificity) بالاتری برخوردار می‌باشد. Rathbon در سال ۱۹۸۶ (۱۱)، امامی در سال ۱۳۷۵ (۵) و Jones در سال ۱۹۸۶ (۱۶) نیز در ردیابی آنتی‌بادی علیه هلیکوباکترپیلوری با استفاده از آزمایش Whole Cell Elisa به نتیجه مشابهی دست یافته‌اند و جواب‌های مثبت کاذب زیادی را برای این آزمایش گزارش کرده‌اند. این جواب‌ها می‌تواند ناشی از وجود اپی‌توپ‌های آنتی‌ژن مشترک بین پروتئین‌های فلاژلین هلیکوباکترپیلوری با گونه‌های کمپیلو باکتر و سایر باکتری‌ها باشد (۱۷،۱۸،۱۹).

Jones نشان داد که بیماران با تیتر بالای آنتی‌بادی علیه کمپیلوباکتر ججونی در آزمایش Elisa با آنتی‌ژن‌های هلیکوباکتر پیلوری واکنش تقاطعی نشان می‌دهد امّا چنین واکنش‌هایی در آزمایش‌های با حساسیت کمتر نظیر ثبوت مکمل دیده نمی‌شود (۱۶). بررسی Rathbon نیز بیانگر آن است که افرادی با تیتر بالای آنتی‌بادی علیه کمپیلو باکتر فکالیس ، کمپیلوباکتر فتولی، کمپیلوباکتر ججونی و کمپیلوباکتر اسپوتوروم با آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری در روش Elisa واکنش نشان می‌دهد (۱۱). اهمیت موضوع بویژه در کشورهای در حال توسعه حایز اهمیت است، زیرا شیوع عفونت‌های ناشی از کمپیلوباکتر ججونی فراوان می‌باشد (۱۸). در مطالعه فاضلی در سال ۱۳۷۴ میزان جداسازی کمپیلو باکتر ججونی از مدفوع کودکان تحت بررسی در شهر اصفهان، ۸/۸ درصد گزارش گردیده است (۲۰). مقایسه مطالعات به عمل آمده در خصوص اعتبار آزمایش Whole Cell Elisa نشان می‌دهد این آزمایش جهت تشخیص عفونت‌های ناشی از هلیکوباکتر پیلوری فاقد اعتبار است، زیرا حساسیت و ویژگی این آزمایش کمتر از ۹۰ درصد و حاصل خوب این دو شاخص نیز کمتر از ۸۰ درصد می‌باشد. با توجه به این بررسی و به منظور بهبود نتایج ردیابی آنتی‌بادی علیه هلیکوباکتر پیلوری روش Elisa با آنزیم اوره آز این باکتری انتخاب گردید،زیرا : اولاً وجود اوره آز برای بقای سویه‌های هلیکوباکترپیلوری و حتی گونه‌های دیگر از جنس هلیکوباکتر که در محیط معده میزبان‌های مختلف استقرار می‌یابد حیاتی است و تجانس زیادی بین اسید آمینه قسمت ان - ترمینال اوره آز ۴ گونه مختلف جنس هلیکوباکتر نشان می‌دهد که اوره‌آز گونه‌های مختلف این جنس از باکتری‌ها منشا مشترک دارند و ژن‌های کد کننده آنها در طول گذشت زمان محفوظ مانده و دستخوش تغییرات تکاملی نشده‌اند (۲۱،۲۲). ثانیاً اوره آز هلیکوباکتر از نظر بیوشیمیایی و ژنتیکی از اوره آز باکتری‌های بیماری‌زا دستگاه ادراری نظیر گونه‌های پروتئوس ، پرو ویدنسیا مورگانلا تفاوت می‌کند. اوره آز هلیکوباکتر به صورت ملکولی هگزامر است که هر مونومر آن از دو زیر واحد A و B تشکیل گردیده است ، در حالی که اوره آز سایر باکتری‌ها به صورت سه زیرواحدهی هستند. ضریب میکائیس اوره آز هلیکوباکترپیلوری برابر با ۰/۳ میلی‌مول در لیتر می‌باشد امّا این ضریب برای اوره آز سایر باکتری‌ها ۴۰۰ الی ۵۰۰ میلی‌مول است (۲۳، ۲۱). ثالثاً اوره آز هلیکوباکتر پیلوری پروتئینی با وزن ملکولی بالا است (حدود ۵۵۰ تا ۶۰۰ کیلودالتون) و در سطح باکتری نیز بیان می‌شود. از این رو ایموژن قوی است به طوری که تزریق عصاره تام فرمالیته شده این باکتری (Whole Cell formalinized) به خرگوش‌ها تولید آنتی‌بادی IgG به مقدار زیاد علیه آن می‌کند (۲۳). نتایج این تحقیق نشان داد HM Cap Elisa در مقایسه با آزمایش‌های استاندارد طلایی از اعتبار خوبی جهت تشخیص عفونت‌های ناشی از هلیکوباکترپیلوری برخوردار می‌باشد. از آن جایی که انجام این آزمایش از نظر

اقتصادی مقرون به صرفه بوده و انجام آن نیز آسان‌تر است، استفاده از آن برای تشخیص این باکتری توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند از واحدهای پژوهش به خاطر مشارکتشان در طرح ، معاونت محترم پژوهشی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به خاطر تامین هزینه‌های مالی این پژوهش تشکر نمایند. هم‌چنین از آقایان دکتر اتاق‌زاده و دکتر دانشگذ متخصصین دستگاه گوارش، آقای دکتر ساسان عسگری متخصص گیاه درمانی و آقای مهندس علی فرزان متخصص آمار و خانم محبوبه نفیسی مسئول بخش Elisa آزمایشگاه مهدیه و آقای فرزاد عریضی کارشناس ارشد بخش ایمنی‌شناسی تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

1. Phandis SH. Parlow HH. Levy M. Surface localization of helicobacter pylori urease and a heat shock protein homology requires bacterial autolysis. Infect Immun. 1996; 64: 905-912.
2. Williams CL Helicobacter pylori. Bacteriology and laboratory diagnosis. J Infect. 1997; 34:1-5.
3. Rautelin H. Kosunen TU. Helicobacter pylori and associated gastroduodenal diseases. APMIS. 1991; 99: 677-695.
4. Blaser MJ. Helicobacter pylori: H's role in disease. Clin Infect Dis. 1992; 15: 386-393.
5. McColl KEL. Helicobacter pylori. Clinical aspects. J Infect. 1997; 34: 7-13.
6. Parsonnet J. Friedman GD. Vandersteen DP. Helicobacter pylori and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med. 1991; 325: 1127-1131.
7. Sipponen P. Price A. Gastritis and gastric cancer. In: Malfertheiner P. Michettip. Price A (Eds). Helicobacter pylori an atlas. 1St ed. New york: Science press. 1996; 8: 18-19.
8. Patel P. Mendall MA. Khulusi S. Helicobacter pylori infection in childhood, risk factors and effect on grawth. Br Med J. 1994; 309: 1119-1123.
9. Barthel JS. Everett ED. Diagnosis of cam pylobacter pylori infections, the gold standard and the alternatives. Rev Infect Dis. 1990; 16: S107-S114.
10. Crabtree JE. Phil D. Shallcross TM. Mucosal humoral immune response to helicobacter pylori in patients with duodenitis diges. Dis Sci. 1991; 36: 1266-1273.
11. Rathbon BJ. Wyatt JI. Worsley BW. Systemic and local antibody responses to gastric campylobacter pyloridis in non-ulcer dyspepsia. Gut. 1986; 27: 642-647.

12. Gossens H. Glupczynski Y. Burette A. Evaluation of a commerically available second generation immunoglobulin G enzyme immunoassay for detection of helicobacter pylori in fection. J Clin Microbiol. 1992; 30: 176- 180.

13. Evans DJ. Graham DY. A sensitive and specific serologic test for defection of campylobacter pylori infection. Gastroentrol. 1989; 96: 1004-1008.

14. Carpenter AB. Enzymed linked immunoassay. In: Rose N R. De macorio E C. Fahey J L (Eds). Manual of clinical laboratory immunology. 4th ed. Washington: American society for microbiology; 1992: 123-137.

۱۵- امامی ح. به کارگیری تکنیک الیزا جهت تشخیص هلیکوباکترپیلوری در بیماران مبتلا به ناراحتی‌های دستگاه گوارش فوقانی. پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد میکروب شناسی. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان؛ ۱۳۷۵: ۷۹-۶۸.

16. Jones DM. Eldridge J. Fox AJ. Antibody to the gastric campylobacter like organism (campylobacter pyloridis. clinical correlations and distribution in the normal population. J Med Microbiol. 1989; 22: 57-62.

17. Newell DG. Identification of the auter membrane protein of campyloridis and antigenic cross reactivity between C. pyloridis and C.jejuni J. Gen Microbiol. 1987; 133: 163-170.

18. Buchvald D. Maeland JA. Characterization of a 25000-dalton helicobacter pylori protein, cross reacting with a campylobacter jejuni protein. APMIS. 1992; 100: 470-478.

19. Salamas M. Wefuan JN. Shiro Koulla S. Value of whole cell antigen extract for serologic detection of helicobacter pylori. J Clin Microbiol. 1993; 31: 3331-3332.

۲۰- فاضل ع. حاذقی ک. پورسینا ف. جداسازی و تشخیص کمپیلوباکتر ججونی از مدفوع کودکان مبتلا به اسهال. مجله دانشکده پزشکی اصفهان. ۱۳۷۴؛ ۱۳ (۱۴) ۶۷-۵۵.

21. Mobley HLT. Cortesia HJ. Rosenthal LE. Characterization of urease from campylobacter pylori. J Clin Microbiol. 1988; 26: 831-836.

22. Dunn BE. Sung CC. Taylor NS. Purification and characterization of helicobacter pylori urease. Infect Immun. 1991; 59: 3343- 3345.

23. Cesareo SD. Langton SR. Kinetic properties of helicobacter pylori urease compared with jack bean urease. FEMS Microbiol Lett. 1992; 99: 15-22.