دانشور
پزشکی

پاسخ سرولوژیک بیماران مبتلا به هلیکوباکترپیلوری به آنتی‌ژن‌های جدا شده از باکتری با روش SDS-PAGE

نویسندگان: دکتر محمود صفاری[1]، دکتر حسین‌شریفی[2] و دکتر طاهره‌خامه‌چیان[3]

۱. استادیار گروه میکروب‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی کاشان
۲. دانشیار گروه داخلی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی کاشان
۳. استادیار گروه پاتولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم‌پزشکی کاشان
* نویسنده مسئول: Email: saffarimahmood@yahoo.com

چکیده

زمینه: حدود نیمی به مردم جهان به عفونت با هلیکوباکترپیلوری دچارند، اما فقط بعضی از افراد، علائم بالینی ظاهر می‌کنند. علاوه بر ویژگی‌های ژنتیکی میزبان و فاکتورهای محیطی، خصوصیات آنتی‌ژنی باکتری نیز در پاتوژنسیتی سویه‌ها مؤثر است. هدف این مطالعه، بررسی ساختمان آنتی‌ژنی سویه‌های مختلف هلیکوباکترپیلوری در بیمارانی است که عفونت آن‌ها با روش‌های استاندارد طلایی تشخیص و وضعیت پاتولوژی آن‌ها مشخص شده است.

مواد و روش‌ها: از میان ۱۲۷ بیمار مورد مطالعه که به‌صورت تصادفی انتخاب شدند از هر کدام دو نمونه از قسمت آنتر معده، همراه با ۵ سی‌سی خون گرفته شد و روی بیماران تست‌های اوره‌از سریع، هیستولوژی، پاتولوژی، الیزا و کشت در محیط اختصاصی و شرایط میکروآئروفیلیک انجام گرفت. سپس با استفاده از عصاره آنتی‌ژن باکتری که با NOG استخراج شده بود روی ۳۷ نمونه HP + که با استاندارد طلایی آلودگی آن‌ها تأیید شده بود تست ایمنوبلات انجام شد. نتایج ایمنوبلات با استفاده از کیت استاندارد Helico blot 2-0 system مورد تأیید و کنترل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج به‌دست آمده نشان داد که در ۹۴/۷ درصد از بیماران مبتلا به دئودنیت، آنتی‌بادی علیه cag A (116 KDa) و در۷۳/۶ درصد آنتی‌بادی علیه Vac A (89KDa) وجود دارد، درحالی‌که این میزان در گاستریت ۸۳ و ۵۴ درصد و در بیماران مبتلا به سرطان معده و متاپلازی به ترتیب ۸۱/۸ و ۷۲/۷ درصد بود. آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های ۶۶ (Ureas B)، ۶۱، ۵۸ (HSP) کیلودالتون در بیماران مبتلا به گاستریت بیش‌تر و آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های ۴۵، ۳۷، ۳۵ کیلودالتون کم‌تر دیده شد. در سایر موارد اختلاف قابل توجهی مشاهده نگردید.

بحث و نتیجه‌گیری: با بررسی و مطالعه نتایج فوق به نظر می‌رسد مطالعه ساختمان آنتی‌ژنیک سوش آلوده‌کننده در پیش گویی شدت بیماری نمی‌تواند به تنهایی مؤثر باشد و سایر فاکتورها نقش مهم‌تری در شدت بیماری دارند.

واژه‌های کلیدی: هلیکوباکترپیلوری، آنتی‌ژن، Vac A. Cag A، ایمنوبلات

دوماهنامه علمی – پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال سیزدهم – شماره ۶۳
تیر ۱۳۸۵

تاریخ وصول: ۸۴/۶/۱۲
تاریخ پذیرش: ۸۴/۹/۲۹

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

هلیکوباکترپیلوری یک باکتری گرم منفی مارپیچی میکروآئروفیلیک است که برای اولین بار درسال ۱۹۸۳ جداسازی گردید [۱]. این باکتری در حال حاضر، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های گوارشی در انسان به‌طور وسیع در سطح جهان شناخته شده است [۲] و می‌تواند منجر به گاستریت مزمن، زخم معده و سرطان معده گردیده، باعث نوعی لنفوم معده (MALT) گردد [۳]. در کشورهای توسعه یافته بیش از ۵۰ درصد بزرگسالان به این باکتری آلوده هستند، در حالی‌که در کشورهای در حال توسعه این میزان به ۹۰ درصد می‌رسد [۴]. میزان فراوانی آلودگی به‌طور چشمگیر در بیماران اولسردئودنال و گاستریت بیش از افراد بدون علامت است [۳].

مطالعات متعدد نشان داده که سه عامل محیطی، باکتریایی و میزبان در پاتوژنیسیته این باکتری دخیل هستند. در این میان، ساختمان آنتی‌ژنی باکتری نقش مهمی در شدت بیماری دارد [۵]. این آنتی‌ژن‌ها در تعامل با سیستم ایمنی بدن میزبان طوری عمل می‌کنند که سیستم ایمنی میزبان قادر به حذف باکتری نیست [۶]. آنتی‌ژن‌های Cag A (116 KDa) [۷] و همچنین Vac A (89 KDa) از مهم‌ترین آنتی‌ژن‌هایی هستند که در ویرولانس باکتری اهمیت بسیار دارند [۸]. پراکندگی سویه‌های حامل این آنتی‌ژن‌ها در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت است. در بعضی مناطق ۶۰–۵۰ درصد سویه‌ها و در مناطقی دیگر تا ۹۰ درصد سویه‌های جدا شده از بیماران، حامل آنتی‌ژن‌های فوق هستند و به همین علت در مناطق اخیرالذکر، عفونت‌های حاد باکتری فراوانی بیش‌تردارند [۹و۱۰].

هدف این تحقیق، مطالعه ساختمان آنتی‌ژن سویه‌های عامل عفونت براساس پاسخ ایمنی بدن در بیمارانی است که عفونت با هلیکوباکترپیلوری در آن‌ها با روش‌های استاندارد طلایی تشخیص گردیده و وضعیت پاتولوژی عفونت در این بیماران مورد بررسی قرار داده شده است.

مواد و روش‌ها

انتخاب بیماران و نمونه‌گیری: در این مطالعه ۱۲۷ بیمار که به ناراحتی دستگاه گوارش فوقانی دچارند و دارای اندیکاسیون اندوسکوپی بودند به‌صورت تصادفی و مقطعی انتخاب گردیدند. از این تعداد ۷۳ مرد (۵۷/۵ درصد) و ۵۴ زن (۴۲/۵ درصد) با میانگین سنی ۸۵–۱۶ سال بودند. ۸۵ نفر از بیماران به مشارکت در مطالعه ما راضی شدند که از هر بیمار دو تا سه نمونه از قسمت آنتر معده با فورسپس اندوسکوپی (فیبروسکوپ اولمپوس) نمونه‌برداری شد و با محیط ترانسپورت به آزمایشگاه میکروب‌شناسی و پاتولوژی منتقل گشت. از هر بیمار ۵ سی‌سی خون تام گرفتیم و بعد از جداکردن سرم، آن را در ۷۰°C– فریز کردیم.

بررسی‌های میکروب‌شناسی: نمونه بیوپسی ارسالی به بخش میکروب‌شناسی بعد از هموژنیزاسیون به محیط کلمبیا اگار حاوی مکمل‌های کمپیلوباکتر «Merck, Trimethoprim 5 mg/l, Ploymyxin B 2500mg/l, vancomycin 10mg/l» حاوی ۵ درصد سرم جنین گوساله «Difco» و ۵ درصد گلبول قرمز فشرده کشت دادیم. سپس پلیت‌ها در شرایط میکروآئروفیلیک «Merck: Gaspack C» و ۳۷°C قرار داده و بعد از ۶–۴ روز از روی مرفولوژی کلنی، رنگ‌آمیزی گرم، تست‌های اوره‌از، کاتالاز و اکسیداز باکتری مورد تشخیص قرار می‌گرفت. تست اوره‌از سریع (RUT) با استفاده از محیط کشت مخصوص (اوره ۲ گرم، پتاسیم دی هیدروژن فسفات ۰/۲ گرم، فنل رد ۰/۰۰۴ گرم، آب مقطر ۱۰ میلی‌لیتر) همزمان در اتاق اندوسکوپی انجام می‌گرفت. تغییر رنگ بعد از ۲ ساعت در محیط مذکور به‌عنوان مثبت تلقی گردید. بررسی‌های هیستولوژی و رنگ‌آمیزی مستقیم با گیمسا در آزمایشگاه پاتولوژی با استفاده از نمونه ارسالی در فرمالین انجام پذیرفت. جهت تشخیص موارد مثبت به کمک تست الیزا (diaplus diagnostic) از سرم بیماران با روش توصیه شده در کیت فوق انجام پذیرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

استاندارد طلایی برای تشخیص عفونت براساس حداقل کشت مثبت، یا اوره‌از سریع به‌علاوه هیستولوژی مثبت، یا الیزا به‌علاوه هیستولوژی مثبت، یا اوره‌از سریع به‌علاوه الیزا مثبت صورت‌پذیرفت.

استخراج پروتئین‌های سطحی: باکتری‌های جدا شده از بیماران را پس از تشخیص نهایی، در PBS حل کرده، پس از سه بار شستشو و تهیه غلظت بالایی از باکتری، آنتی‌ژن‌های آن‌را با استفاده از گلیسین اسیدی (۰/۲ مولار با PH=۲/۲)، NOG (n-octyl – B - D - glucopyransid PH=2) و روش کلریدلیتیوم (یک مولار) به‌طور جداگانه استخراج کردیم و سوپرناتانت‌های حاصل را یک شبانه روز دیالیز کردیم. مقدار تقریبی پروتئین موجود در عصاره‌ها با روش لوری (lowry) اندازه‌گیری گردید. این عصاره‌ها سپس در ۷۰°C– نگهداری شدند [۱۱].

الکتروفورزیس SDS - PAGE: به این منظور، بعد از آماده کردن معرف‌ها و محلول‌های مربوط و با توجه به تجارب متعدد روی روش‌های الکتروفورزیس خطی و گرادیانت، ژل گرادیانت ۲۰– ۷/۵ درصد با ضخامت ۰/۷۵ میلی‌متر انتخاب و عصاره‌ها به‌طور مجزا با ۳۰ میلی‌آمپر ثابت برای Running در ۴–۳ ساعت انجام شد. سپس رنگ‌آمیزی و رنگ زدایی انجام و وزن مولکولی باندها محاسبه شد. بهترین تفکیک از نظر نوع و تعداد باندها و مقایسه با کیت استاندارد روی عصاره NOG به‌دست آمد. لذا از این عصاره برای ادامه کار استفاده شد [۱۲].

ایمنو بلاتینگ عصاره NOG: بعد از جداسازی آنتی‌ژن‌ها روی ژل، آن‌ها را روی فیلتر نیتروسلولز منتقل کرده (۷۵ دقیقه با ولتاژ ثابت ۱۰۰ ولت)، با TBS شستشو دادیم و جهت ارزیابی، یک استریپ از صفحه نیترو سلولز را همراه با استاندارد وزن مولکولی جدا کرده، با پانسو S (Merck) رنگ‌آمیزی کردیم. سپس فیلتر را با BSA بلاک کرده، با TTBS (Tween 20 +TBS) شستشو دادیم. آنگاه هرلاین الکتروفورز را برش داده، استریپ مجزایی به‌دست آوردیم. این استریپ‌ها را با سرم رقیق شده هر یک از بیماران HP^+ (مجموعاً ۳۷ بیمار به‌صورت جداگانه) و سپس آنتی‌بادی کونژوگه پراکسیداز Antihuman (Biogene-cat:BA 114) (IgG…..HRo) مجاور کرده، بعد از شستشو با TTBS نوارهای جداگانه باسوبسترای آنزیم (DBA; Biogene) مجاور کرده و بعد از ظهور باندهای قهوه‌ای با استفاده از آب دیونیزه، واکنش متوقف گردید. بعد از خشک کردن استریپ‌ها، باندها را تجزیه و تحلیل، وزن مولکولی هر یک را تعیین، و در چک‌لیست مربوط به بیمار یادداشت کردیم [۱۱].

ایمونوبلاتینگ با کیت استاندارد Helico Blot 2.1.system: سرم ۳۷ بیماری را که با استریپ‌های خانگی بررسی کرده بودیم جهت کنترل با استریپ‌های کیت استاندارد آزمایش و تأیید کردیم. روش کار براساس توصیه شرکت سازنده انجام شد: به‌طور خلاصه پس از آماده‌سازی استریپ‌ها در ظرف مخصوص، آن‌ها را با سرم بیماران مجاور کرده، سپس آنتی‌هیومن کونژوگه و سوبسترای آن را نیز اضافه کردیم. توقف واکنش پس از ظهور باندها با کمک محلول مخصوص انجام پذیرفت. استریپ هر بیمار با Protei Finder مقایسه و نوع آنتی‌ژن‌ها و باندها تشخیص داده شد [۱۳]. باندهای ظاهر شده در این کیت، با باندهای ظاهر شده در استریپ‌های خانگی که خودمان تهیه کرده بودیم مقایسه گردید و هیچ‌گونه تفاوتی از این نظر مشاهده نگردید. کمیت مقدار بعضی از آنتی‌ژن‌ها درکیت استاندارد بیش‌تر به نظر می‌رسید، ولی این امر ما را در تشخیص استریپ‌های خانگی دچار مشکل نمی‌کرد.

Archive of SID

www.SID.ir

تجزیه و تحلیل نتایج

ظهور هر باند در استریپ‌ها نشان‌دهنده حضور آنتی‌بادی مربوط به آن آنتی‌ژن در بدن بیمار، و مؤید آنتی‌ژن‌های موجود در باکتری آلوده‌کننده است. این نتایج در جداول مخصوص ثبت و در مقایسه با سایر نتایج، اعم از پاتولوژی، کشت، سرولوژی و اوره‌از سریع و رنگ‌آمیزی گیمسا، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

استاندارد طلایی در این مطالعه کشت مثبت، یا رنگ‌آمیزی گیمسا به همراه تست اوره‌از سریع مثبت، یا رنگ‌آمیزی گیمسا به همراه تست الیزا مثبت، یا اوره‌از سریع به‌همراه الیزا مثبت در نظر گرفته شد. از ۸۵ بیمار مورد مطالعه، ۴۷ مورد (۵۵/۳ درصد) از نظر عفونت با هلیکوباکترپیلوری مثبت (HP^+) و ۳۸ مورد (۴۴/۷ درصد) منفی (HP^-) بودند. ازمیان ۴۷ نفر HP^+، ۳۷ مورد از نظر وجود آنتی‌بادی‌های IgG موجود در سرم علیه آنتی‌ژن‌های باکتری با روش ایمنوبلات خانگی بررسی گردیدند و با کیت استاندارد هلیکوبلات مورد تأیید قرار گرفتند.

از میان بیماران HP^+، ۱۱ مورد دارای پاتولوژی متاپلازی و یا سرطان معده، ۲ مورد نرمال، ۱۹ مورد گاستریت مزمن و ۵ مورد مبتلا به گاستریت حاد بودند. در معاینه اندوسکوپی ۱۹ مورد دارای دئودنیت، ۴ مورد دارای NUD (دیس پپسی غیرزخمی)، و ۴ مورد دارای دیس‌پپسی بودند و مابقی نامشخص تشخیص داده شدند. در بیماران HP^+ وجود آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های ۱۱۶ کیلودالتون (Cag A)، ۱۰۰، ۹۷، ۸۹ (vac A)، ۸۴، ۷۸، ۶۶ (Urease B)، ۶۱ و ۵۸ پروتئین شوک حرارتی (Heat shock protein) ۵۷. ۴۵. ۳۷. ۳۵. ۳۰ (Urease A) ۲۴. ۱۹/۵ کیلودالتون که در SDS- PAGE جدا شده بودند مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

در بیماران مبتلا به دئودنیت ۹۴/۷ درصد آن‌ها آنتی‌بادی علیه Cag A داشتند، درحالی‌که درگاستریت این میزان ۸۳ درصد و در بیماران مبتلا به سرطان معده و متاپلازی ۸۱/۸ درصد بود. در بیماران مبتلا به گاستریت، آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های ۶۶، ۶۱، ۵۸ کیلودالتون با فراوانی بیش‌تر و آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن‌های ۴۵، ۳۵، ۳۷، کیلودالتون کم‌تر دیده شد (جدول ۱).

جدول ۱ فراوانی نوع باندهای ظاهر شده درایمنوبلات در بیماران HP^+ برحسب تشخیص پاتولوژی آن‌ها (براساس نتایج به‌دست آمده در کیت استاندارد و خانگی)

نوع آنتی‌ژن‌ها(KDa) / تشخیص‌پاتولوژی (تعداد بیماران)	۱۱۶ (cag A)	۸۹ (vac A)	۶۶ (urease B)	۶۱	۵۸ (HSP)	۴۵	۳۷	۳۵
گاستریت (از مجموع ۲۴بیمار) (٪)	۲۰ (۸۳/۳)	۱۳ (۵۴/۱)	۱۹ (۷۹/۱)	۲۱ (۷۸/۵)	۱۷ (۷۰/۸)	۹ (۳۷/۵)	۸ (۳۳/۳)	۶ (۲۵)
آدنوکارسینوماومتاپلازی (از مجموع ۱۱ بیمار) (٪)	۹ (۸۱/۸)	۸ (۷۲/۷)	۱۱ (۱۰۰)	۷ (۶۳/۶)	۹ (۸۱/۸)	۴ (۳۶/۳)	۳ (۲۷/۲)	۲ (۱۸/۱)
بیوپسی نرمال (دو بیمار) (٪)	۱ (۵۰)	۱ (۵۰)	۲ (۱۰۰)	۲ (۱۰۰)	۱ (۵۰)	۰ (۰)	۱ (۵۰)	۰ (۰)

توضیح آن‌که تشخیص دئودنیت و دیس‌پپسی براساس روش اندوسکوپی صورت می‌گیرد و تشخیص گاستریت و آدنوکارسینوما و متاپلازی براساس روش‌های پاتولوژی انجام می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

در این مطالعه، مهم‌ترین آنتی‌ژن‌های باکتری بخصوص Cag A و Vac A که در ویرولانس باکتری نقش مستقیم دارند مورد مطالعه قرارگرفتند. نتایج نشان داد که اکثر بیماران مبتلا به اولسردئودنال، دیس‌پپسی، گاستریت، و اکثر بیماران مبتلا به آدنوکارسینوما و متاپلازی، آلوده به سوش $Cag\ A^+$ عامل عفونت هستند.

براساس نتایج فوق، در بیماران مبتلا به گاستریت و آدنو کارسینوما و متاپلازی، سروتیپ‌های $Cag\ A^+$ هلیکوباکترپیلوری از فراوانی بیش‌تری برخوردار بوده است. براساس مطالعات انجام شده، این فاکتور نقش مهمی در تشدید عفونت و سیر حاد بیماری دارد [۴،۱و۹]. در مطالعه زیانگ (xiang) و همچنین در مطالعه پیک (Peek) نیز سویه‌های $Cag\ A^+$ از بیماران مبتلا به زخم معده بیش‌تر گزارش گردیده است [۵و۹]. سایر مطالعات سرولوژیک نیز نشان داده که فراوانی آنتی‌بادی علیه آنتی‌ژن Cag A در بیماران مبتلا به اولسردئودنال و آدنوکارسینومای معده بیش از بیماران مبتلا به گاستریت بوده است [۴و۱۴]. نیلسون (Nilsson) و همکارانش نشان دادند که آنتی‌بادی علیه Cag A و Vac A دربیماران سرطان معده و زخم معده فراوان‌تر از بیماران مبتلا به گاستریت است [۳]. همچنین ریدر (Reider) و رشتنیکف (Reshetnikov) نیز این ارتباط را در تحقیقات خود به‌دست آورده‌اند [۱۵و۱۴].

با توجه به این‌که اولسردئودنال شکل حاد عفونت است، بیش‌تر سویه‌های جدا شده از بیماران فوق $Cag\ A^+$ هستند؛ ولی در سایر اشکال پاتولوژیک بیماری میزان فراوانی این سویه‌ها کم‌تر است. این نتیجه با نتایج مطالعات دیگران همخوانی دارد، ولی از طرف دیگر به نظر می‌رسد چون اکثر سویه‌های جداشده از بیماران جامعه مورد مطالعه $Cag\ A^+$ هستند، این فاکتور نمی‌تواند در پیشگویی شدت بیماری ارزش داشته باشد و احتمال می‌رود این پدیده در مطالعات وسیع‌تر نیز واضح‌تر به نظر برسد. در مطالعاتی که در چین و کره و ژاپن انجام گرفته نیز به‌دلیل این‌که اکثر سوش‌های جدا شده از بیماران $Cag\ A^+$ بوده‌اند، همین پدیده صادق است و ارزش پیشگویی وجود آنتی‌بادی علیه $CagA^+$ در این مناطق بسیار پایین‌است [۱۶و۱۷]، ولی در بعضی از کشورها مثل مغرب ۳۰ درصد سویه‌ها $CagA^+$ هستند و در نتیجه، ارزش پیشگویی وجود آنتی‌بادی علیه $CagA^+$ در تشخیص شدت بیماری بسیار بالا است. در بلژیک نیز چون ۹۰/۹ درصد سویه‌های جدا شده $CagA^+$ هستند وضعیت مشابه مطالعه ما است [۱۲].

با توجه به مطالعات بسیار زیاد، نیاز به مطالعات بیش‌تر در این زمینه احساس می‌شود و دخالت سایر فاکتورها را باید در نظر گرفت [۹و۱۰].

علاوه بر نوع سوش عامل عفونت، فاکتورهای ژنتیکی میزبان و فاکتورهای محیطی از جمله عواملی هستند که در شدت بیماری نقش دارند [۱،۴و۵]. به‌علاوه به‌دلیل هتروژنیستی بالای باکتری در آنتی‌ژن‌های پیکره، به نظر می‌رسد ارتباط میان نتایج مطالعات ایمنوبلات برحسب نوع جمعیت مورد مطالعه متفاوت باشد و این مهم در سایر گزارش‌ها نیز به خوبی مورد اشاره قرار گرفته است [۱۸و۱۹]. این موضوع ناشی از نوع شرایط انجام کار و نوع سوش‌های استفاده شده در ایمونوبلات است. پلی‌مرفیسم شدیدی که در بین آنتی‌ژن‌های این باکتری دیده می‌شود و همچنین شرایط آماده‌سازی آنتی‌ژن‌ها از جمله عواملی است که باید در مطالعات مدنظر قرار گیرد. با عنایت به اهمیت باکتری و نقش آنتی‌ژن‌های آن، بخصوص Cag A و Vac A در پاتوژنیسیتی باکتری به نظر می‌رسد پیپری والانس آنتی‌بادی علیه این دو آنتی‌ژن در جامعه مورد مطالعه ما بالا باشد و در سایر مطالعات نیز مشخص شده حتی در افرادی که بهبودی نسبی از بیماری یافته‌اند ممکن است آنتی‌بادی علیه این آنتی‌ژن‌ها در بدنشان دیده شود [۱۰]. بنابراین پیشنهاد می‌گردد تحقیقات بیش‌تری در این باره با استفاده از روش‌های مولکولی به‌منظور تعیین دقیق ژنوتیپ آنتی‌ژن‌های ویرولانس و ارتباط ژنتیک افراد و فاکتورهای محیطی با شدت بیماری انجام پذیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Correa P.، New strategies for the prevention of gastric cancer: Helicobacter pylori and genetic susceptibility .J Sury Oncol. 2005 Jun 1; 90 (3): 134 – 8 ; discussion 138.
2. Castillo R. G, Mazari H.M , Lopez V.Y: Helicobacter Pylori: Focus on cag A and vac A major virulence Factor., Salud Publica Mex. 2004 Nov – Dec ; 46(6): 538 – 48.
3. Nilsson C, sillen A, Eriksson L, et. al., Correlation between cag pathogenicity island composition and Helicobacter Pylori – associated gastroduodenal disease: Infect Immune. 2003 Nov: 71 (11): 6573 – 81.
4. Abasiyanik MF, Tunc M. salih BA., Enzyme Immunoassay and immunoblotting analysis of Helicobacter Pylori infection in Turkish asymptomatic subjects ; Diagn Microbiol Infect Dis. 2004 Nov: 50(3) 173 – 7.
5. Toro R. C, Garcia S.J, Casado F. I، et. al،. Clinical importance of the cag A and vac A proteins and of the host fctores in the development of peptic ulcer in patients infected by Helicobacter Pylori:Rev Clin Esp. 2003 sep: 203 (9): 430 – 3.
6. Tummala S, Keates S, Kelly cp., Update on the immunologic basis of Helicobacter Pylori gastritis.، Curr Opin Gastroenterol. 2004 Nov: 20 (6): 592 – 7.
7. Shmuely H,Passaro Dg, Vaturi M. et al. Association o f cag A^+ Helicobacter Pylori infection with aortic atheroma Atherosclersis. 2005 mar: 179(1):127 – 32.
8. Chen XJ، Yan Y، shen YF،. Dominant cagA/vac A genotypes and coinfection frequency of H. pylori in peptic ulcer or chronic gastritis patients in zhejiang province and correlations among different genotypes, coinfection and severity of the disease. Chin Med J (Engl).2005 mar 20: 118(6):460 – 7.
9. Misiewicz JJ.، Helicobacter Pylori: Past, Present and Future: Scand J Gastroenterol. 1992: 27 suppl 194: 25 – 29.
10. Ye w, Held M, Enroth H، et al. Histologv and culture results among subjects with antibodies to cag A but no evidence of Helicobacter pylori infection o with IgG ElisA, Scand J Gastroenterol. 2005 Mar; 40(3): 312 – 8.
11. Lelwala JG, Nilsson I, Cell surface proteins of Helicobacter pylori as antigens in an ElisA and a comparison with three commercial ElisA, J Infect Dis. 1992. 24: 457 – 65.
12. Hazel M.M, Stuart L, Hazel L, et al, Serological response to specific Helicobacter pylori antigens: Antibody against cag A antigen Is not predictive of gastric cancer in a developing country،The Am J Gastroenterol, 1996 sep: 91(9): 1785 – 1788.
13. Mitchell HM, Hazel sl, et al, Antigen recognition during progression from acute to chronic infection with a cag A positive strain of Helicobacter pylori, Infect and Immune, 1996, 64(4): 1166 – 1172.
14. Rieder G, Merchant JL, haas R., Helicobacter pylori cag – type IV secretion system facilitates corpus colonization to induce precancerous conditions in Mongolian gerbils، Gastroenterology. 2005 may: 128 (5): 1229 – 42.
15. Reshetnikov OV, Kurilovich SA, Krotov SA, et al, Relationship between cag A – bearing strains of Helicobacter pylori and gastrointestinal pathology, Ter Arkh. 2005: 77 (2): 25 – 8.
16. Hu PJ،li yy. Zhou MH, et al.، Helicobater pylori associated with a high prevalence of duodenal ulcer disease and a low prevalence of gatric cancer in a developing nation, Gut, 1995: 36: 198 – 202.
17. Qiao w, Hu JL, Xiao B, etal، Cag A and Vac A genotype of Helicobacter pylori associated with gastric disease in xian area. World J Gastroenterol. 2003 Aug: 9(8): 1762 – 6.
18. Aucher P, petit ML، Use of immunoblot assay to define serum antibody patterns associated with Helicobacter pylori infection and with H. pylori - related ulcers, J Clin Microbiol, 1998 Apr: 36 (4): 931 – 936.
19. Lopez Brea M، Alarcon T, Evaluation of a western blot technique (Helico blot 2.o) for the detection of specific Heliobacter pylori antigens in children, Enferm Infec Microbiol Clin, 1998 Jun – Jul: 16(6): 275 – 279.

Archive of SID

www.SID.ir