ارزیابی روش سیتولوژی تماسی در تشخیص هلیکوباکترپیلوری: مقایسه چهار روش

* دکتر محسن دهقانی ** دکتر فرهاد ایرانمنش *** دکتر محمودرضا هاشمی

* استادیار، گروه پاتولوژی ** دستیار گروه پاتولوژی *** استادیار گروه داخلی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

مجله پزشکی هرمزگان سال ششم شماره چهارم زمستان ۸۱ صفحات ۱ تا ۷

چکیده

مقدمه: *هلیکوباکترپیلوری یک باکتری گرم منفی است که با محیط اکولوژیک موکوس معده سازگار یافته است. این باسیل گرم منفی به خاطر صفات خاص خود قادر به شروع و تداوم یک وضعیت مزمن آسیب به مخاط معده می‌باشد.*

روش کار: *به منظور تعیین ارزش سیتولوژی تماسی (تماسی) در تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری مخاط معده، از دو نمونه بیوپسی آنترال بدست آمده از طریق اندوسکوپی هر یک از ۱۰۰ بیماری که به دلیل شکایات مختلف گوارشی در بیمارستان شهید محمدی بندرعباس تحت اندوسکوپی دستگاه گوارش فوقانی قرار گرفته بودند، چهار اسمیر تماسی تهیه شده و با چهار روش مختلف رایت، گیمسا، پاپانیکلائووگرم رنگ‌آمیزی شدند. نتایج از لحاظ وجود یا عدم وجود هلیکوباکترپیلوری با نتایج حاصله از دو روش استاندارد طلائی هیستوپاتولوژی و اوره آز سریع به طور جداگانه مقایسه شد.*

نتایج: *در مقایسه با هیستوپاتولوژی، از چهار نوع روش مختلف رنگ‌آمیزی، روش رایت از بیشترین میزان حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت، ارزش اخباری منفی و کارایی برخوردار بود. میزان کارایی این چهار روش از ۷۲٪ تا ۸۰٪ متغیر بود در حالیکه در مقایسه با استاندارد طلایی (تست اوره آز سریع)، روش رایت از بیشترین حساسیت، ارزش اخباری منفی و کارایی و روش گرم از بیشترین ویژگی و ارزش اخباری مثبت برخوردار بودند. در همین رابطه کارایی سه روش رایت، گیمسا و گرم در مقایسه با استاندارد طلایی ۸۳٪ و کارایی روش پاپانیکلائو ۷۹٪ بدست آمد.*

بحث: *با توجه به نتایج فوق، تهیه اسمیرهای تماسی و رنگ‌آمیزی آنها با هر یک از چهار روش فوق به عنوان روشی حساس، ساده، سریع و مقرون به صرفه توصیه می‌شود.*

کلید واژه‌ها: *هلیکوباکترپیلوری ـ سیتولوژی ـ رنگ‌آمیزی ـ بیوپسی*

نویسنده مسئول:
دکتر محسن دهقانی زاهدانی
بخش پاتولوژی، بیمارستان شهید محمدی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

مقدمه:

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی با اندازه تقریبی ۰/۵ ـ ۳/۵ میکرون و به شکل C یا S می‌باشد که با محیط اکولوژیک موکوس معده سازگار یافته است (۱، ۱۸). با توجه به شیوع بالای عفونت با هلیکوباکترپیلوری در کشورهای در حال توسعه (۸، ۹) و اینکه نشان داده شده است این باسیل گرم منفی به واسطه صفات تخصیص یافته‌ای که دارد، قادر به شروع و تداوم یک وضعیت مزمن آسیب به مخاط معده می‌باشد (۲، ۳، ۵) و از طرفی همراهی کلونیزاسیون این میکروارگانیسم در مخاط معده

Archive of SID
www.SID.ir

با بیماری‌هایی مثل گاستریت حاد، گاستریت مزمن، زخم‌های پپتیک معده و دوازدهه، کارسینوم معده و حتی یک نوع لنفومای معده (MALT-lymphoma) به اثبات رسیده است (۲، ۸)، اهمیت تشخیص صحیح و به موقع این عفونت مشخص می‌گردد. با توجه به پیچیدگی و وقت‌گیر بودن روش‌های مبتنی بر کشت این میکروارگانیسم (۱۰، ۱۵)، امروزه برای تشخیص آزمایشگاهی این عفونت، از روش‌های دیگری نظیر سرولوژی، تست تنفسی اوره و اخیراً هم از سیتولوژی استفاده می‌شود (٤، ۱۵، ۱۷، ۱۹).

یکی از روش‌های سیتولوژی، تهیه اسمیرهای تماسی (imprint) از طریق تماس ملایم نمونه بیوپسی شده معده با سطح یک لام شیشه‌ای تمیز می‌باشد که بعد از رنگ‌آمیزی می‌توان به راحتی میکروارگانیسم‌های تیپیک هلیکوباکترپیلوری را در زیر میکروسکوپ نوری مشاهده نمود (٦، ۷، ۱۱، ۱۲).

امروزه در ایران روش معمول تشخیص، شناسایی هلیکوباکترپیلوری مبتنی است بر تهیه برش‌هایی از نمونه بیوپسی معده و رنگ‌آمیزی آن با هماتوکسیلین ائوزین و یا گیمسا.

با توجه به مطالب فوق و اینکه بعضی از محققین نشان داده‌اند که شناسایی هلیکوباکترپیلوری در اسمیرهای بدست آمده در اطاق اندوسکوپی می‌توانند اجازه شروع درمان مناسب زودهنگام را بدهند (٤، ۱۳، ١٤)، ما بر آن شدیم تا با این تحقیق، ارزش سیتولوژی تماسی تهیه شده از نمونه‌های بیوپسی معده را که به چهار روش مختلف رایت، گیمسا، پاپانیکلائو و گرم رنگ‌آمیزی شده‌اند و به طور جداگانه با دو روش استاندارد طلایی هیستوپاتولوژی و اوره آز سریع مقایسه گردیده‌اند را تعیین نماییم تا به تستی ساده، سریع، حساس و مقرون به صرفه در تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری دست یابیم.

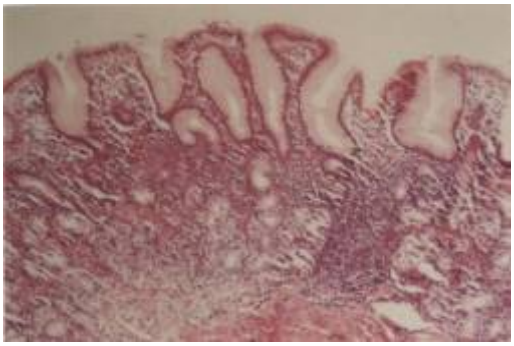
مواد و روش‌ها:

در این تحقیق جمعیت مورد مطالعه تعداد ۱۰۰ نفر بیمار می‌باشد که دارای شکایات گوارشی بوده و اندیکاسیون اندوسکوپی داشته‌اند و جهت انجام اندوسکوپی فوقانی در طی مدتی حدود ٦ ماه یعنی اول آذرماه سال ۸۰ تا پایان اردیبهشت ماه ۸۱ به بخش اندوسکوپی بیمارستان شهید محمدی بندرعباس مراجعه نموده بودند.

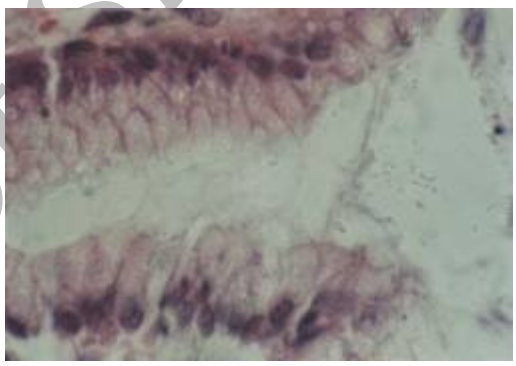
مطالعه به صورت آینده‌نگر و همگروهی صورت گرفت. بعد از ثبت کامل مشخصات بیمار، اندوسکوپی توسط پزشک فوق تخصص بیماری‌های گوارشی انجام شده و بعد از بررسی دقیق معده، دو نمونه بیوپسی از دو ناحیه کاملاً مجاور آنتروم معده گرفته شد. نمونه‌ها توسط سوزن استریل یا پنس استریل با ملایمت از فورسپس بیوپسی به روی لام منتقل شد و با چرخاندن نمونه و تماس قسمت‌های مختلف نمونه با لام، چهار عدد اسمیر تماسی تهیه شد. یکی از لام‌ها جهت تثبیت بلافاصله در ظرف حاوی الکل اتانول ۹٦ درجه قرار داده شد و سه لام دیگر با هوا خشک و تثبیت شدند. یکی از لام‌ها که قرار بود بعداً به روش گیمسا رنگ‌آمیزی شود توسط متانول تثبیت شد و لامی که قرار بود به روش گرم رنگ شود توسط حرارت شعله تثبیت شد. سپس یکی از نمونه‌ها در شیشه حاوی آگار تست اوره آز سریع تجاری جهت تعیین فعالیت اوره آز فرو برده شد و نمونه دیگر در ظرف حاوی فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد و جهت بررسی هیستوپاتولوژی به بخش پاتولوژی بیمارستان شهید محمدی ارسال گردید. لام تثبیت شده در الکل به روش پاپانیکلائو و سه لام دیگر یکی به طریقه رایت، یکی به طریقه گیمسا و دیگری به طریق گرم رنگ‌آمیزی شدند.

هر یک از لام‌های سیتولوژی تهیه شده به صورت یک سویه کور توسط متخصص پاتولوژی به طور کامل با مدت زمان متوسطی بین ٥ تا ۱۰ دقیقه با میکروسکوپ نوری با درشت‌نمایی ٤۰۰ و ۱۰۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند و لام‌ها با علامت مثبت و منفی به ترتیب در صورت وجود میکروارگانیسم هلیکوباکترپیلوری و یا عدم وجود آن نشانه‌گذاری و ثبت شدند. (عکس‌های شماره ۳ الی ٦).

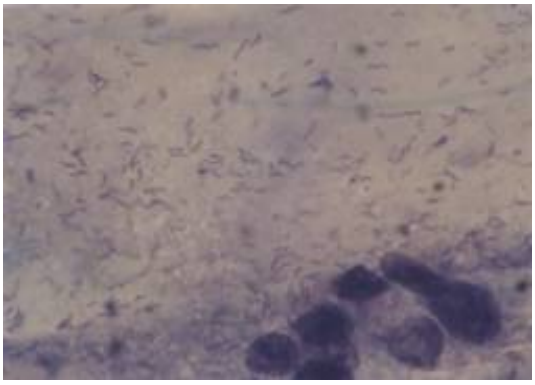
Archive of SID
www.SID.ir



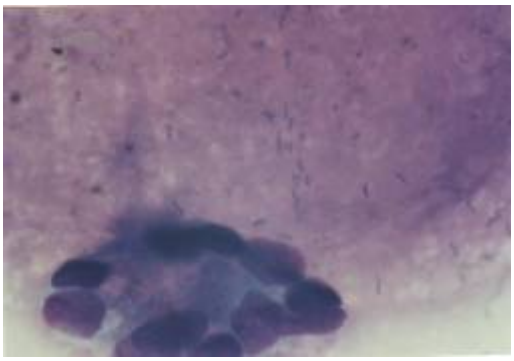
عکس شماره ۱ ـ نمای میکروسکوپی مخاط معده در گاستریت مزمن فعال با ارتشاح شدید سلول‌های آماسی مزمن و حاد در آستر مخاطی با نفوذ به دیواره غدد (X400 رنگ‌آمیزی H&E)



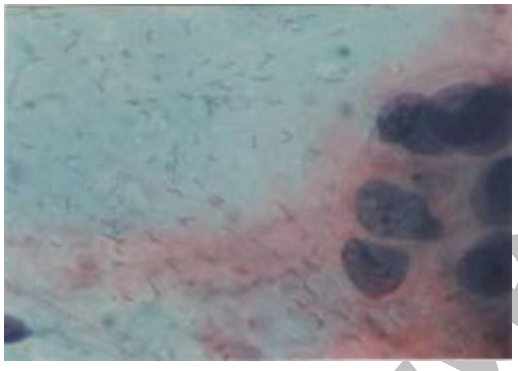
عکس شماره ۲ ـ نمای میکروسکوپی قسمتی از مخاط معده که اپتیلیوم سطحی با میکروارگانیسم‌های هلیکوباکترپیلوری پراکنده در موکوس مجاور آن را نشان می‌دهد (رنگ‌آمیزی X400, H&E)



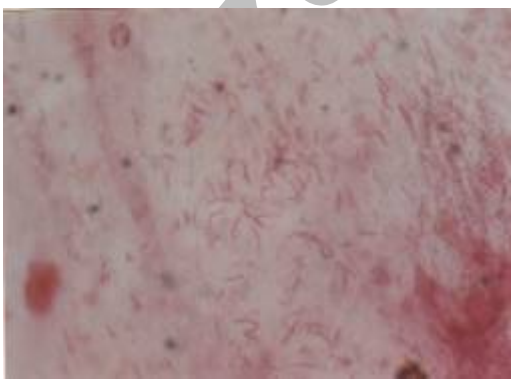
عکس شماره ۳ ـ نمای میکروسکوپی اسمیر تماسی تهیه شده از بیوپسی معده با میکروارگانیسم‌های تیپک هلیکوباکترپیلوری فراوان (رنگ‌آمیزی رایت X1000)



عکس شماره ٤ ـ نمای میکروسکوپی اسمیر تماسی تهیه شده از بیوپسی معده با میکروارگانیسم‌های تیپیک هلیکوباکترپیلوری (رنگ‌آمیزی گیمسا X1000)



عکس شماره ٥ ـ نمای میکروسکوپی اسمیر تماسی تهیه شده از بیوپسی معده با میکروارگانیسم‌های هلیکوباکترپیلوری فراوان (رنگ‌آمیزی پاپانیکلائو X1000)



عکس شماره ٦ ـ نمای میکروسکوپی اسمیر تماسی تهیه شده از بیوپسی معده با میکروارگانیسم‌های هلیکوباکترپیلوری فراوان (رنگ‌آمیزی گرم X1000)

Archive of SID

www.SID.ir

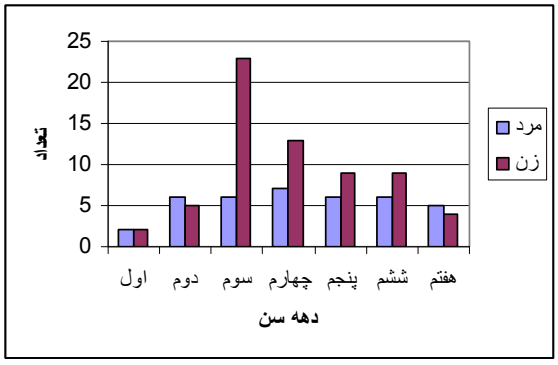
نمونه‌هایی که جهت هیستوپاتولوژی به بخش پاتولوژی فرستاده شده بودند بعد از تهیه بلوک‌های پارافینی و برش به طریقه معمول هماتوکسیلین ـ ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شده و بعد از بررسی علاوه بر سایر تشخیص‌های پاتولوژیک از لحاظ وجود میکروارگانیسم هلیکوباکترپیلوری با علامت مثبت یا منفی نشانه‌گذاری و ثبت شدند. در این تحقیق نتایج حاصله از هیستوپاتولوژی و تست اوره آز سریع به عنوان استاندارد طلایی در نظر گرفته شدند.

در پایان نتایج حاصله از هر یک از چهار روش رنگ‌آمیزی اسمیرهای سیتولوژی تماسی با روش استاندارد هیستوپاتولوژی مقایسه شده و برای هر یک از روش‌های ذکر شده حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی و کارایی محاسبه گردید. در ضمن به طور جداگانه شاخص‌های فوق در مقایسه با روش اوره آز سریع نیز محاسبه شدند.

نتایج:

جمعیت مورد مطالعه را ۱۰۰ نفر بیماری که دارای شکایات گوارشی بوده و اندیکاسیون اندوسکوپی فوقانی داشته‌اند، تشکیل می‌دهند که از این تعداد ۳۶ نفر مذکر و ٦٤ نفر مونث بوده‌اند و محدوده سنی بیماران بین ۱۸ تا ۷۹ سال با متوسط سنی ٤٨ سال بوده است (نمودار شماره ۱).

نمودار شماره ۱ ـ توزیع سنی و جنسی افراد مورد مطالعه



تشخیص‌های اندوسکوپی این بیماران از نرمال تا گاستریت آنترال و زخم دوازدهه متغیر بود. تشخیص‌های هیستوپاتولوژیک این بیماران نیز از یافته‌های طبیعی تا گاستریت مزمن فعال با تشکیل فولیکل‌های لنفاوی همراه با کلونیزاسیون با میکروارگانیسم هلیکوباکترپیلوری متغیر بود (عکس‌های شماره ۱ و ۲). از تعداد یکصد بیمار تحت بررسی هیستوپاتولوژیک، ٤٨ مورد از لحاظ وجود ارگانیسم هلیکوباکترپیلوری مثبت و ٥٢ مورد منفی گزارش شدند در اسمیرهای تماسی تهیه شده که با متد رنگ‌آمیزی رایت، رنگ‌آمیزی شدند، ٥٦ مورد از لحاظ وجود میکروارگانیسم اچ ـ پیلوری مثبت و ٤٤ مورد منفی گزارش شدند.

از ٤٨ مورد با هیستولوژی مثبت، در ٤٢ مورد رنگ‌آمیزی رایت نیز مثبت بود (مثبت حقیقی) و در ٦ مورد رنگ‌آمیزی رایت آنها منفی بود (منفی کاذب). همچنین از بین ٥٢ مورد با هیستولوژی منفی، در ۳۸ مورد رنگ‌آمیزی رایت آنها هم منفی بود (منفی حقیقی) و در ١٤ مورد رنگ‌آمیزی رایت آنها مثبت بود (مثبت کاذب). با توجه به داده‌های فوق و از طریق محاسبات آماری، چنین نتیجه‌گیری شد که روش رنگ‌آمیزی رایت بر روی اسمیرهای تماسی تهیه شده از نمونه‌های اندوسکوپی، جهت تشخیص میکروارگانیسم اچ ـ پیلوری از حساسیت ۸۷/٥٪ و ویژگی ۷۳/۷٪ برخوردار است و ارزش اخباری مثبت برای این تست ۷٥٪ و ارزش اخباری منفی برای این تست ۸٦/۳٪ می‌باشد. همچنین صحت تشخیصی یا کارایی این تست ۸۰٪ محاسبه شد.

در مورد رنگ‌آمیزی گیمسا نیز از ٤٨ مورد با هیستولوژی مثبت، اسمیرهای سیتولوژی تماسی ٤١ مورد مثبت حقیقی و در ۷ مورد منفی کاذب بودند و از ٥٢ مورد هیستولوژی منفی، اسمیرها در ۳۳ مورد منفی حقیقی و در ۱۹ مورد مثبت کاذب بودند و طبق محاسبات آماری برای رنگ‌آمیزی گیمسا، حساسیت ۸٥/٤٪، ویژگی ٦۳/٤٪ ارزش اخباری مثبت ٦۳/۳٪، ارزش اخباری منفی ۸٥/٥٪ و صحت تشخیص (کارایی) ۷٤٪ تعیین شد.

در مورد رنگ‌آمیزی اسمیرهای تماسی تهیه شده با روش پاپانیکلائو از ٤٨ مورد با هیستولوژی مثبت، اسمیرها در ۳۸ مورد مثبت حقیقی و در ۱۰ مورد منفی

Archive of SID
www.SID.ir

کاذب بودند و از ۵۲ مورد با هیستولوژی منفی اسمیرها در ۳٤ مورد منفی حقیقی و در ۱۸ مورد مثبت کاذب بودند و طبق محاسبات آماری برای رنگ‌آمیزی پاپانیکلائو اسمیرهای تماسی، حساسیت ۷۹٪، ویژگی ٦۵/۳٪، ارزش اخباری مثبت ٦۷/۸٪، ارزش اخباری منفی ۷۷/۲٪ و صحت تشخیص (کارایی) ۷۲٪ تعیین شد.

به همین ترتیب در مورد رنگ‌آمیزی اسمیرهای تماسی تهیه شده با روش گرم، از ٤۸ مورد با هیستولوژی مثبت، اسمیرها در ٤۱ مورد مثبت حقیقی و در ۷ مورد منفی کاذب بودند و از ۵۲ مورد با هیستولوژی منفی، اسمیرها در ۳۷ مورد منفی حقیقی و در ۱۵ مورد مثبت کاذب بودند و طبق محاسبت آماری برای رنگ‌آمیزی گرم اسمیرهای تماسی حساسیت ۸۵/٤٪، ویژگی ۷۱/۱٪، ارزش اخباری مثبت ۷۳/۲٪، ارزش اخباری منفی ۸٤٪ و صحت تشخیص (کارایی) ۷۸٪ تعیین شد.

کلیه نتایج فوق به صورت مقایسه‌ای در جدول شماره ۱ خلاصه شده‌اند.

جدول شماره ۱ ـ اندکس‌های آماری چهار روش مختلف رنگ‌آمیزی روی اسمیرهای تماسی نمونه‌های بیوپسی معده در مقایسه با روش استاندارد هیستوپاتولوژی

رنگ‌آمیزی	اندکس(٪)				
	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی	کارآیی
رایت	۸۷/۵	۷۳/۷	۷۵	۸٦/۳	۸۰
گیمسا	۸۵/٤	٦۳/٤	٦۳/۳	۸۵/۵	۷٤
پاپانیکلائو	۷۹	٦۵/۳	٦۷/۸	۷۷/۲	۷۲
گرم	۸۵/٤	۷۱/۱	۷۳/۲	۸٤	۷۸

همانطور که قبلاً نیز ذکر شد، نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی‌های چهارگانه فوق به طور جداگانه در مقایسه با یک استاندارد طلایی دیگر یعنی تست اوره آز سریع بر روی آگار نیز مقایسه شد و مورد تجزیه و تحلیل‌های آماری قرار گرفت که نتایج حاصل از آن در جدول شماره ۲ خلاصه شده است.

از ۱۰۰ نمونه مورد مطالعه در ٥٦ مورد تست اوره آز سریع مثبت و در ٤٤ مورد این تست منفی بوده است. در مورد رنگ‌آمیزی رایت اسمیرهای تماسی تهیه شده از ٥٦ مورد با تست اوره آز سریع مثبت در ۵۰ مورد اسمیرهای تهیه شده مثبت و در ٦ مورد منفی بوده‌اند و از ٤٤ مورد تست اوره آز سریع منفی، ۳۳ مورد منفی و ۱۱ مورد مثبت گزارش شده‌اند. لذا طبق محاسبات آماری برای رنگ‌آمیزی رایت اسمیرهای تماسی، حساسیت ۸۹/۲٪، ویژگی ۷۵٪، ارزش اخباری مثبت ۸۱/۹٪، ارزش اخباری منفی ۸٤/٦٪ و صحت تشخیص (کارایی) ۸۳٪ تعیین شد به همین ترتیب در مورد رنگ‌آمیزی گیمسای اسمیرهای تماسی در مقایسه با تست اوره آز سریع حساسیت ۸۷/۵٪، ویژگی ۷۷/۲٪، ارزش اخباری مثبت ۸۳٪، ارزش اخباری منفی ۸۲/۹٪ و صحت تشخیص (کارایی) ۸۳٪ محاسبه شد.

جدول شماره ۲ ـ اندکس‌های آماری چهار روش مختلف رنگ‌آمیزی روی اسمیرهای تماسی نمونه‌های بیوپسی معده در مقایسه با روش استاندارد اوره آز سریع

رنگ‌آمیزی	اندکس (٪)				
	حساسیت	ویژگی	ارزش اخباری مثبت	ارزش اخباری منفی	کارآیی
رایت	۸۹/۲	۷۵	۸۱/۹	۸٤/٦	۸۳
گیمسا	۸۷/۵	۷۷/۲	۸۳	۸۲/۹	۸۳
پاپانیکلائو	۸۰/۳	۷۷/۲	۸۱/۸	۷۵/۵	۷۹
گرم	۸۳/۹	۸۱/۱	۸۵/٤	۸۰	۸۳

برای رنگ‌آمیزی اسمیرهای تماسی به روش پاپانیکلائو در مقایسه با تست اوره آز سریع، حساسیت ۸۰/۳٪، ویژگی ۷۷/۲٪، ارزش اخباری مثبت ۸۱/۸٪، ارزش اخباری منفی ۷۵/۵٪ و صحت تشخیص ۷۹٪ محاسبه شد.

و نهایتاً برای رنگ‌آمیزی اسمیرهای تماسی به روش گرم در مقایسه با تست اوره آز سریع، حساسیت ۸۳/۹٪، ویژگی ۸۱/۸٪، ارزش اخباری مثبت ۸۵/٤٪، ارزش اخباری منفی ۸۰٪ و صحت تشخیص ۸۳٪ محاسبه شد.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری:

در این مطالعه چهار روش رنگ‌آمیزی بر روی نمونه‌های سیتولوژی تماسی تهیه شده از نمونه‌های بیوپسی معده جهت تشخیص میکروارگانیسم هلیکوباکترپیلوری به کار گرفته شده و با دو روش استاندارد طلایی یعنی هیستوپاتولوژی و تست اوره آز سریع مورد ارزیابی قرار گرفته است.

در مقایسه با استاندارد طلایی هیستوپاتولوژی بیشترین میزان حساسیت به ترتیب عبارتند از رایت، گیمسا و گرم (به یک اندازه) و سپس پاپانیکلائو. بیشترین میزان ویژگی نیز به ترتیب مربوط به رایت، گرم، پاپانیکلائو و گیمسا می‌باشد.

در مقایسه با استاندارد طلایی تست اوره آز سریع، حساسیت رنگ‌آمیزی‌ها به ترتیب رایت، گیمسا، گرم و پاپانیکلائو و ویژگی رنگ‌آمیزی‌ها نیز به ترتیب گرم، پاپانیکلائو، گیمسا و رایت می‌باشد.

هر چند میزان حساسیت و ویژگی رنگ‌آمیزی‌های فوق‌الذکر بر روی اسمیرهای تماسی بیوپسی معده نسبت به مطالعات دیگر کمتر است ولی این میزان قابل توجه نبوده و پیشنهاد می‌شود با توجه به ارزانی و سرعت انجام این رنگ‌آمیزی‌ها، همراه با بیوپسی معده و تست اوره آز سریع، اسمیرهای تماسی تهیه و رنگ‌آمیزی گردد. حتی شاید بتوان گفت در مواردی که اطلاعات اضافه‌ای در مورد شدت تخریب مخاطی یا غیرطبیعی بودن سلولی مورد نیاز نمی‌باشد، می‌توان از سیتولوژی تماسی همراه با تست اوره آز سریع استفاده نمود و هیستولوژی را حذف کرد و تنها در صورتی که شک کلینیکی عفونت هلیکوباکترپیلوری وجود داشته ولی این دو تست منفی بودند، از نمونه موجود جهت تهیه لام پاتولوژی استفاده کرد و به این ترتیب از صرف مقدار قابل توجهی هزینه جلوگیری نمود. البته مجددا تأکید می‌شود که اگر تخریب مخاط و شک به وجود آتیپی سلولی یا بدخیمی وجود داشته باشد، هیچ روشی نمی‌تواند جایگزین آزمایش هیستولوژی گردد و در خاتمه لازم به ذکر است که هر چند تفاوت‌هایی میان حساسیت و ویژگی انواع رنگ‌آمیزی فوق وجود دارد ولی این اختلافات قابل ملاحظه نبوده و از هر یک از این رنگ‌آمیزی‌ها که در دسترس باشند، می‌توان استفاده نمود.

منابع و مآخذ References

1. Geisinger KR. Alimentary tract. In: Bibbo M, ed. Comprehensive cytopathology. 2nd ed. Philadelphia W.B.Saunders; 1997:427-425.
2. Grawford JM. The gastrointestinal tract. In: Cotran RS, Kumar V, Colins T, eds. Pathologic basis of diseases. 6th ed. Philadelphia W.B.Saunders. 1999; 790-791.
3. Debongnie JC, Donnay M, Mairesse J. Gastrospirillum hominis (Helicobacter Heilmani): A cause of gastritis, sametimes transient, better diagnosis by touch cytology. *Am J Gastroenterol*. 1995; 90(3):411-416.
4. Debongnie JC, Mairesse J, Donnay M, Dekonike X. Touch cytology a quick, simple, sensitive screening test in the diagnosis of infections of the gastrointestinal mucosa. *Arch pathol Lab Med*. 1994;118(11):1115-1118.
5. Debongnie JC, Delmee M, Mainguet P, Beyaert C, Haot J, Legros G. Cytology: A simple rapid sensitive method in the diagnosis of Helicobacter pylori. *Am J Gastroenterol*. 1992;87(1):20-23.
6. Faverly D, Fameres D, Lamy N, Fieves M. Gample F. Identification of Campylobacter pylori in gastric biopsy smears. *Acta Cytol*. 1990; 34(2):205-210.
7. El-Zimaity HM, Ota H, Scott S, Killen DE. Graham DY, et al. A new triple stain for Helicobacter pylori suitable for the autostainer: Carbol fuchsin/Alcian blue/hematoxylin-eosin. *Arch Pathol Lab Med*. 1998;122(8):732-736.
8. Valle JD. Peptic ulcer disease and related disorders. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, eds. Harrison's principles of internal medicine. 15th ed. New York. Mc Graw Hill; 2001:1652-1654.

Archive of SID
www.SID.ir

9. Heilmann KL, Borchard F. Gastritis due to spiral shaped bacteria other than Helicobacter pylori: clinical, histological and ultrastructural findings. *Gut*. 1991;32:137-140.
10. Reisner BS, Woods GL. Medical bacteriology. In: Henry JB, ed. Clinical diagnosis and management laboratory methods. 20th ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 2001:1106-1107.
11. Lee N, Tsai HN, Fang KM. Comparison for four different methods for detection of Helicobacter pylori from gastric biopsies. *Chi J Microbiol Immunol*. 1990;23(3):220-231.
12. Mosra SP, Dwivedi M, Misra V, Gupta SC. Imprint cytology, a cheap rapid and effective method for diagnosing helicobacter pylori. *Posdgrad Med J*. 1993;69(810):291-295.
13. Misra SP, Misra V, Dwivedi M, Singh P, Gupta SC. Diagnosis of Helicobacter pylori by imprint cytology: can the same biopsy specimen be used for histology. *Diagn Cytophatol*. 1998;18(5):330-332.
14. Misra V, Misra SP, Dwivedi M, Singh P, Bhargava V, Gupta SC. A topographic study of Helicobacter pylori density, distribution and associated gastritis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2000;15(7):737-743.
15. Neiger R, Simpson KW. Helicobacter infection in dogs and cats: facts and fictions. *J Vet Intern Med*. 2000;14(2):125-133.
16. Pinto MM, Levine RH, Shaw-Stiffel T. Detection of Helicobacter pylori by papanicolaou stained touch imprint: a comparison with histologic examination (letter). *Am J Gastroentrol*. 1993;88(8):1300-1301.
17. Rey E, Carrion I, Mendoza ML, Diaz-Rubio M. Imprint cytology in the diagnosis of helicobacter pylori infection. *Acta Cytol*. 1997;41(4):1144-1146.
18. Owen DA. The stomach. In: Sternberg SS, ed. Diagnosis surgical pathology. 3rd ed. Philadelphia . Lippincott Williams & Wilkins; 1999:1317-1318.
19. Trevisani L, Sartori S, Ruina M, et al. Touch cytology a reliable and cost effective method for diagnosis of Helicobacter pylori infection. *Dig Dis Sci*. 1997;42(11):2299-2303.

Archive of SID

www.SID.ir