

위점막에서 *H. pylori* 검출을 위한 조직염색법의 비교

전라북도 군산의료원 병리과

차 민 선

Comparative Analysis of Histochemical Stains about Detection of *H. pylori* in Gastric Mucosa

Min-Seon Cha

Department of Pathology, Gunsan Medical Center, Gunsan 573-713, Korea

Several methods have been used in the detection of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) which was believed to be a pathogenic organism causing chronic gastritis, benign peptic ulcer, gastric carcinoma or malignant lymphoma. Even though several methods were introduced for detection of *H. pylori* in stomach, there were controversies in their sensitivities and specificities. This experiment were designed to study the comparative analysis of staining methods (hematoxylin and eosin (H&E), Giemsa, Warthin-Starry and immunohistochemical stain) to detect *H. pylori* in the gastric mucosa. The results were as follows. Average density score of *H. pylori* classified by Genta were 2.29 in Warthin-Starry stain, 2.19 in Giemsa stain, 1.34 in immunohistochemical stain and 0.98 in H&E stain. By comparison between inflammatory degree by Sydney system and result of Warthin-Starry stain, the detection rate and densities of *H. pylori* were increased from mild (61.5% and 0.8), moderate (90.4 and 2.1), and severe (100% and 3.2). From the above findings, Warthin-Starry stain is useful method for detection of *H. pylori* in gastric mucosa.

Key Words : Gastric mucosa, *Helicobacter pylori*, Hematoxylin and eosin stain, Giemsa stain, Warthin-Starry stain, Immunohistochemical stain.

I. 서 론

*H. pylori*는 만성위염, 소화성 궤양, 위선암 또는 mucosa associated lymphoid tissue(MALT) 림프종 등의 발생과 관련있는 병원체로 알려져 있으며 특히 만성위염의 가장 중요한 원인으로 위염 환자의 90% 이상에서 *H. pylori*가 관찰되는 것으로 보고 되었으며(Moss 등, 1992;

Kusters 등, 2006), 위장관 질환자로부터 *H. pylori*를 제거하면 위장관 질환이 현저히 감소 되었다는 보고도 있다(Graham, 1991). *H. pylori*는 편모를 가진 2.0~3.5 μm 길이의 그람 음성 나선형 간균이며 위산의 고산도와 위내의 산소 및 이산화탄소 농도를 최적 환경으로 삼아 서식하는 비호기성 세균으로 urease를 활성화시켜 요소를 암모니아와 이산화탄소로 분해하는데, 분해산물인 암모니아에 의해 위산이 중화되기 때문에 고산도의 위에서 살 수 있는 것으로 알려져 있다(Hazell 등, 1986; 안 등, 2004; Ando 등, 2006). *H. pylori*는 위점막 표층에 대부분 분포하지만 일부는 점막 고유층내에서도 세균이 존재하는 것으로 알려져 있다(김, 2001).

교신저자 : 차민선, (우) 573-713 전북 군산시 지곡동 29-1, 전라북도 군산의료원 병리과
Tel : 063-472-5373
E-mail : cms4277@kunmed.or.kr

약 100년 전에 Bizzozero에 의하여 동물의 위점막에서 세균이 처음 보고된 후 사람의 위내에서 나선균의 존재가 보고된 예가 있었으나, 그 후 Palmer가 사람의 위에서 흡입 생검을 통하여 얻은 위점막에서 균을 발견 할 수 없다는 보고를 하였으며 이로 인하여 위산분비가 정상인 위 속에서 세균은 살 수 없다고 생각하게 되었다(Palmer, 1954; 정, 2002). 그러나 1975년 Steer와 Colin-Jones 등이 위궤양 환자의 위 절제 표본을 검토한 결과 81%의 환자에서 나선균이 있다고 보고하였으나 균주의 배양에는 성공하지 못하였다(Steer와 Eolin-Jones, 1975). 1982년 4월 오스트레일리아의 Royal Perth 병원에서 Marshall과 Warren에 의하여 37℃의 다습, 비호기 조건에서 균을 배양하는데 성공하였다(Marshall와 Wamen, 1984). 처음 분리 배양된 균은 *Campylobacter*와 같은 조건에서 배양되었고 위의 유문부에서 배양이 이루어졌다고 하여 *Campylobacter pyloridis*라고 하였으나 균을 명명하는 방법이 잘못되어 1987년 *Campylobacter pylori*라고 Marshall이 명명하였다. 그 후 세균의 특성이 *Campylobacter*와는 다른 종으로 알려져 1989년부터 *Helicobacter pylori*로 불려지고 있다(Goodwin, 1994; 정, 2002).

H. pylori 감염 여부를 알아보기 위한 진단법은 내시경을 이용해 얻은 조직으로 검사하는 침습적인 방법과 내시경을 이용하지 않고 진단이 가능한 비침습적 방법으로 크게 나눌 수 있다(윤, 2001; 윤 등, 2002; Ricci 등, 2007). 침습적인 방법으로는 신속요소분해효소검사법, 조직 검사법, 균 배양검사, 중합효소연쇄반응(PCR)법 등이 있고, 비침습적 방법으로는 혈청 검사법, 요소 호기 검사법(윤, 2001)과, 최근 사용되기 시작한 대변항원검사인 HpSA(*Helicobacter pylori* Stool Antigen)검사법 등이 있다(서, 2004). 이들 검사법 중 *H. pylori*의 검출률이 높은 것은 조직을 이용한 검사법으로 알려져 있다(김, 2002). 내시경 생검 조직을 이용한 *H. pylori* 검사법에는 다양한 염색 방법이 이용되고 있으나 각각의 염색법에 의한 *H. pylori* 검출 결과는 다양하다.

이에 위내시경 조직 검체를 대상으로 hematoxylin과 eosin(H&E) 염색과 조직화학염색(Giemsa 염색, Warthin-Starry 염색), 및 면역조직화학염색을 시행하여 보다 효과적이고 활용가치가 높은 *H. pylori* 염색법을 알아보하고자 본 연구를 시행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 재료

본 연구는 2005년 10월부터 2006년 9월까지 전라북도 군산의료원에서 위내시경 검사를 시행하여 신속요소분해효소검사법에서 양성을 보이면서 조직검사에서 만성위염으로 진단받은 58 예를 대상으로 하였다.

2. 연구 방법

모든 환자에서 생검 조직을 formaldehyde가 7.4% 함유된 마스크폼 2A[®](Danakorea, Korea)에 24시간 고정된 후 자동침투기를 이용하여 탈수, 투명, 침투 과정을 거친 후 파라핀으로 포매 한 다음 4 μm 두께의 연속절편을 제작하여 유리 슬라이드에 부착 시킨 후 각각의 염색을 시행하였다. 단, 면역조직화학염색에서는 전 처리 과정에서의 조직표본의 탈락을 방지하기 위해 ProbeOn[™] Plus Microscope slide[®](Fisher Scientific, USA)를 사용하여 조직 절편을 부착시켰다.

1) Hematoxylin and eosin(H&E) 염색

조직 절편을 xylene에서 탈파라핀하여 저농도의 알코올 과정을 거쳐 흡수 한 후 헤마톡실린 용액(5분), 분별 및 청색화 과정을 거쳐 에오신 염색(1분)을 한 다음 탈수,

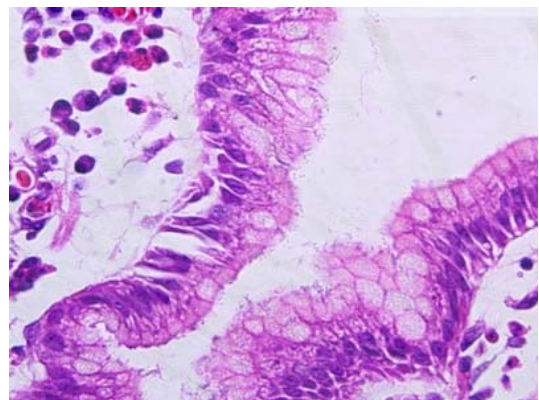


Fig. 1. *H. pylori* stained with pink color by H&E stain in surface epithelium of gastric mucosa and they are difficult to detect with the H&E stain. ×400.

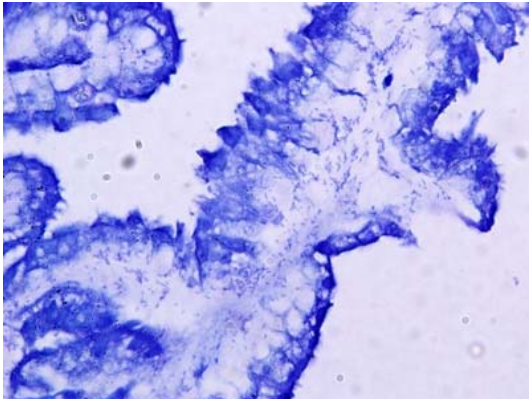


Fig. 2. *H. pylori* stained with blue color by Giemsa stain in surface epithelium of gastric mucosa. $\times 400$.

투명과정을 거쳐 봉입하였으며, H&E 염색에서는 위점막 상피 표면에 분홍색으로 염색된 나선형 간균의 *H. pylori* 균체를 볼 수 있었다(Fig. 1).

2) 조직화학염색

(1) Giemsa 염색

탈파라핀 과정을 거쳐 함수 한 후 Wright-Giemsa 염색액으로 실온에서 20분간 염색 한 후, xylene으로 투명화 한 다음 봉입하였으며, Giemsa 염색에서는 위점막 상피 표면에 청색으로 염색된 나선형 간균의 *H. pylori* 균체를 볼 수 있었다(Fig. 2).

(2) Warthin-Starry 염색

Warthin-Starry 염색은 pH 4.0의 은용액에서 *H. pylori* 를 도은한 후 hydroquinone을 사용하여 은을 금속성 은(흑색)으로 환원시켜 호은성 반응(argyrophilic reaction)을 이용한 염색 방법으로서, 탈파라핀, 함수 과정을 거쳐 50°C 건열멸균기에 1% silver nitrate 용액에 넣고 50분간 침투시킨 후 미리 50°C 건열멸균기에 준비한 혼합 용액(2% silver nitrate, 0.15% hydroquinone, 5% gelatin)에서 발색시켰다. 이때 절편이 옅은 황색이 될 때까지 방치한 후 증류수에 수세 후 탈수, 투명, 봉입하였으며, Warthin-Starry 염색에서는 위점막 상피 표면에 흑색으로 염색된 나선형 간균의 *H. pylori* 균체를 볼 수 있었다(Fig. 3).

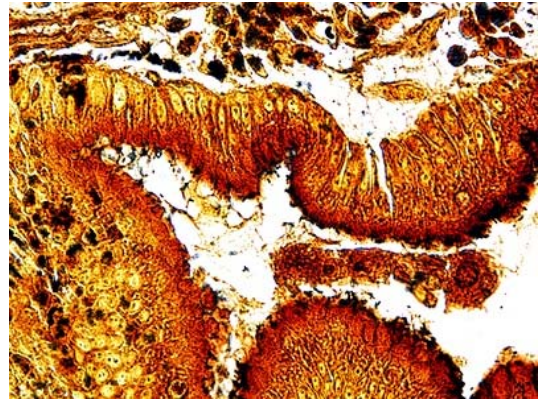


Fig. 3. *H. pylori* stained with black color by Warthin-Starry stain in surface epithelium of gastric mucosa and they are easily detected in the Warthin-Starry stain sections. $\times 100$.

3) 면역조직화학염색

*H. pylori*에 대한 면역조직화학염색은 효소표지 중합체법을 이용하여 UltraVision LP Detection System[®](LAB VISION, USA)에 따라 염색하였다. 조직절편을 부착시킨 슬라이드를 58°C 건열멸균기에서 2시간 가열 처리 한 후 탈파라핀, 함수 과정을 실시 한 후 항원성 부활화를 위해 pH 6.0 citrate 완충액에 슬라이드를 넣고 cooker를 사용하여 microwave에 100°C에서 15분간 가열하였다. 내인성 과산화 효소 억제방법으로 Hydrogen Peroxide Block[®](LAB VISION, USA) 용액을 사용하여 45°C에서 5분간 반응 시킨 후 Tris 완충액으로 4회 세정하였다. 비특이 반응을 줄이기 위하여 Ultra V Block[®](LAB VISION, USA) 용액으로 45°C에서 3분간 반응시킨 후 Tris 완충액에 4회 세정하였다. 일차항체인 Helicobacter Ab-1(LAB VISION, USA; 1:100)를 45°C에서 40분 반응시키고 Tris 완충액에 4회 세정한 후 1차 항체의 역가를 증가 시켜주고 Polymer-HRP[®](LAB VISION, USA)가 1차 항체에 잘 침투 할 수 있도록 Primary Antibody Enhancer[®](LAB VISION, USA) 용액을 45°C에서 15분 반응 시킨 후 Tris 완충액에 4회 세정하였다. 이차항체 반응으로 F(AB)₂ fragment 에 HRP가 표지되어 있는 mouse IgG와 rabbit IgG antibody를 검출 할 수 있는 Polymer-HRP[®](LAB VISION, USA) 용액을 이용하여 45°C에서 17분 반응 시킨 후 Tris 완충액으로 4회 세정한 다음 AEC 용액으로 실온에서 발색시킨 후 Tris 완충액으로 4회 세정하고

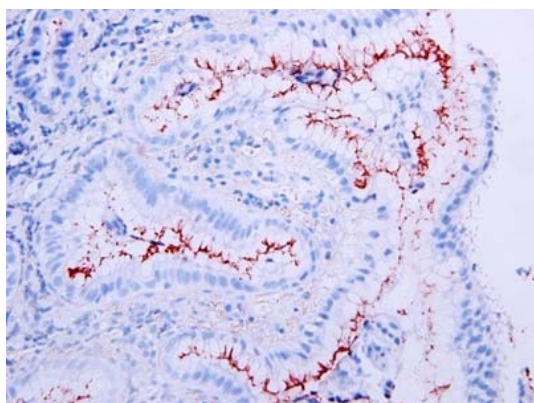


Fig. 4. *H. pylori* stained with brown color by Immunohistochemical stain in surface epithelium of gastric mucosa. but fungus body form of *H. pylori* was not accurately. $\times 400$.

Gill's hematoxylin으로 1분간 대조염색하여 봉입하였으며, 면역조직화학염색에서는 위점막 상피 표면에 갈색으로 염색된 나선형 간균의 *H. pylori* 균체를 볼 수 있었다 (Fig. 4).

3. 염색결과 판독

위점막에서의 *H. pylori* 검출은 광학현미경 고배율 ($\times 400$)시야에서 Genta 분류법에 따라 *H. pylori* 검출률을 0에서 5까지 등급화 하였고(Table 1), 위염의 염증정도와 *H. pylori* 검출률과의 관계를 알아보기 위하여 위염의 조직학적 소견을 Sydney system에 의거하여 염증정도를 경

Table 1. Criteria used for the density of *H. pylori* in the gastric mucosa by Genta

Score	Description
0	No <i>H. pylori</i> bacteria are visible
1	Rare scattered <i>H. pylori</i> ; isolated bacteria or one or two small clusters in the mucosa or in a pit
2	Few scattered <i>H. pylori</i> ; they are spaced widely apart from each other(most pits have few or none)
3	Uniformly distributed on surface and pit ; <i>H. pylori</i> usually can be seen with no difficulty at $\times 4$, they are not crowded against each other and do not form large clumps
4	Very large number of <i>H. pylori</i> on most mucosal surface and pit ; they are large clumps
5	<i>H. pylori</i> on the entire mucosa

도(mild), 중등도(moderate), 고도(severe)의 3등급으로 구분하였다.

4. 통계분석

위염 정도에 따른 Warthin-Starry 염색상에서의 *H. pylori* 검출률과 균밀도와의 관계를 알아 보기위한 통계분석 (Ver. 12.0, SPSS INC., Chicago)으로 Chi-Square Test를 사용하였다.

III. 결 과

1. *H. pylori* 검출률

1) H&E 염색

Genta 분류법에 따라 *H. pylori*의 균밀도를 조사하여 검출률을 나타낸 결과 58 예의 염색표본 상에서 *H. pylori*가 검출되지 않은 음성군은 23 예였으며, 검출된 양성군은 35 예로 1등급은 17 예(29.3%), 2등급은 14(24.1%), 3등급은 4(6.9%)였다. 그러나 높은 균밀도의 4, 5등급에서는 균체가 관찰되지 않았다. 이에 따른 *H. pylori*의 평균 균밀도는 0.98이었다(Table 2).

Table 2. Density score of *H. pylori* analyzed by H&E, Giemsa, Warthin-Starry and immunohistochemical stains in the gastric mucosa

<i>H. pylori</i> density score	No of specimen (%)			
	H&E	Giemsa	Warthin-Starry	Immunohistochemical
0	23(39.7%)	5(8.6%)	7(12.1%)	17(29.3%)
1	17(29.3%)	11(19.0%)	9(15.5%)	17(29.3%)
2	14(24.1%)	22(37.9%)	18(31.0%)	14(24.1%)
3	4(6.9%)	12(20.7%)	12(20.7%)	7(12.1%)
4	0(0.0%)	4(6.9%)	8(13.8%)	3(5.2%)
5	0(0.0%)	4(6.9%)	4(6.9%)	0(0.0%)
Mean*	0.98	2.19	2.29	1.34

* Mean=(density score x No. of specimen) / total No. of specimen(58)

2) 조직화학염색

(1) Giemsa 염색

Genta 분류법에 따라 *H. pylori*의 균밀도를 조사하여 검출률을 나타낸 결과 58 예의 염색표본 상에서 *H. pylori*가 검출되지 않은 0등급은 5 예(8.6%)였으며, 검출된 1등급은 11 예(19.0%), 2등급은 22 예(37.9%), 3등급은 12 예(20.7%)였다. 높은 균밀도의 4, 5등급에서는 각각 4 예(6.9%)를 나타냈다. 이에 따른 *H. pylori*의 평균 균밀도는 2.19이었다(Table 2).

(2) Warthin-Starry 염색

Genta 분류법에 따라 *H. pylori*의 균밀도를 조사하여 검출률을 나타낸 결과 58 예의 염색표본 상에서 *H. pylori*가 검출되지 않은 0등급은 7 예(12.1%)였으며, 검출된 1등급은 9 예(15.5%), 2등급은 18 예(31.0%), 3등급은 12 예(20.7%)였다. 높은 균밀도의 4등급은 8 예(13.8%), 5등급은 4 예(6.9%)를 나타냈으며, 이에 따른 *H. pylori*의 평균 균밀도는 2.29이었다(Table 2).

3) 면역조직화학염색

Genta 분류법에 따라 *H. pylori*의 균밀도를 조사하여 검출률을 나타낸 결과 58 예의 염색표본 상에서 *H. pylori*가 검출되지 않은 음성군은 17 예였으며, 검출된 양성군은 41 예로 1등급은 17 예(29.3%), 2등급은 14 예(24.1%), 3등급은 7 예(12.1%)였다. 높은 균밀도의 4등급은 3 예(5.2%)였으나, 5등급에서는 균체가 관찰되지 않았다. 이에 따른 *H. pylori*의 평균 균밀도는 1.34이었다(Table 2).

2. 위염 정도에 따른 Warthin-Starry 염색상에서의 *H. pylori* 검출률과 평균 균밀도와의 관계

위염의 염증정도를 Sydney system에 따라 경도(mild), 중등도(moderate), 고도(severe)의 3등급으로 분류하여 Warthin-Starry 염색에 의한 *H. pylori*의 검출률과 비교한 결과 Table 3에서 보는바와 같이 경도 염증군(n=13)에서 61.5%, 중등도 염증군(n=21)에서 90.4%, 고도 염증군(n=24)에서 100%로 염증의 정도가 높아질 수록 *H. pylori*의 검출률이 높은 것으로 나타났다(p<0.05). 또한 염증의 정도와 *H. pylori*의 균밀도와의 관계를 분석한 결과 Table

Table 3. Detection rate of *H. pylori* by Warthin-Starry stain the severity of chronic inflammation in gastric mucosa

Degree of inflammation (n)	No. of specimens positive for <i>H. pylori</i> (%)
Mild (13)	8 (61.5)
Moderate (21)	19 (90.4)
Severe (24)	24 (100.0)
Total 58	51 (100.0)

Table 4. Relationship between degree of inflammation and density score of *H. pylori* stained by Warthin-Starry method

Degree of inflammation(n)	Density score of <i>H. pylori</i>						Mean*
	0	1	2	3	4	5	
Mild (13)	5	5	3	0	0	0	0.8
Moderate (21)	2	3	9	4	3	0	2.1
Severe (24)	0	1	6	8	5	4	3.2
Total 58	7	9	18	12	8	4	2.3

* Mean=(density score × No. of specimen) / degree of inflammation(n)

4에서 보는 바와 같이 염증이 심할수록 *H. pylori*의 균밀도가 높아지는 경향을 나타내었다(p<0.05).

IV. 고 찰

*H. pylori*는 다양한 위 질환의 원인으로 만성위염, 소화성 궤양, 위선암 또는 mucosa associated lymphoid tissue(MALT) 림프종 등의 발생과 관련있는 병원체로 알려져 있으며(Kusters 등, 2006), 특히 한국인의 경우 유아 시절부터 감염되어 성인 및 노인에 이르기까지 감염의 상태가 유지되므로 국내에서 발생하고 있는 위장관 질환과 관련하여 *H. pylori*의 검출은 매우 중요하게 다루어지고 있다. 이러한 *H. pylori*의 감염 진단에 있어서 여러 방법들이 사용되고 있으나 위내시경 생검 조직을 얻어 시행하는 검사법들이 많이 이용되고 있다. 이는 점막의 조직학적 정보(염증의 정도, 위축이나 장상피화, 이형성, 악성화)를 동시에 제공한다는 장점을 가지고 있으며, 보고자에 따라 판독의 결과가 달라 질 수 있다는 단점이 있음에도 불구하고 여러 가지 염색을 통하여 조직 내의 *H.*

*pylori*를 현미경으로 관찰하는 조직학적 검사법이 예민도나 특이도를 고려할 때 적절한 검사법으로 여겨지고 있다(김 등, 1999; 윤, 2001). 그러나 H&E 염색에서의 *H. pylori*의 검출률은 대부분의 경우 예민도가 매우 낮은 것으로 보고 되고 있으며, 이에 따라 Giemsa 염색이나 Warthin-Starry 염색 등의 조직화학염색법이 병행되어야 한다는 보고도 있다(제갈 등, 1999; 최, 2001). Kolts 등(1993)은 H&E, Warthin-Starry, Giemsa 염색의 예민도를 조사한 결과 H&E 염색의 경우 84%인데 비해 Warthin-Starry와 Giemsa 염색은 96%로 매우 높게 나타난 것으로 보고하였고, Molyneux와 Harris(1993)은 Giemsa와 silver염색을 표준 검사법으로 사용하여 H&E 염색과 비교해본 결과 66%의 매우 낮은 예민도를 나타냈다고 하였다. 또한 제갈 등(1999)은 H&E, Genta, EI-Zimaity, AgNOR 염색을 비교한 결과 H&E 염색이 다른 조직화학염색에 비해 80%로 상당히 낮게 나타난 것으로 보고하였다.

본 연구에서도 위내시경을 통하여 얻은 위점막 조직에 대하여 *H. pylori*가 가지고 있는 다량의 요소분해효소의 성질을 이용한 신속요소분해효소검사법에서 양성을 보이면서 조직검사에서 만성위염으로 진단받은 58 예를 대상으로 하였다. 단, 신속요소분해효소검사법에 있어서 항생제나 비스무스제제와 같은 약물을 복용한 환자에서 균이 사멸할 수 있는 경우와 신속요소분해효소검사의 조작과정에서 검사자가 조직을 잘못 다룰 경우에 나타날 수 있는 위음성과 위양성, 그리고 동일 내시경 생검 검체의 연속절편을 제작하는 과정에서 *H. pylori*의 균체가 적을 경우에는 일부 절편에서 균체가 발견되지 않을 수 있다는 점을 감안하고 연구에 임하였다. 이러한 58 예를 대상으로 H&E 염색과 조직화학염색(Giemsa 염색, Warthin-Starry염색), 그리고 면역조직화학염색을 시행하여 Genta 분류법에 따라 *H. pylori*의 균밀도를 조사한 결과 H&E 염색 0.98, Giemsa 염색 2.19, Warthin-Starry염색 2.29, 면역조직화학염색 1.34로 H&E 염색은 다른 조직화학염색과 면역조직화학염색에 비해 상당히 낮게 나타났다. 이러한 결과는 이전의 대부분의 연구 결과들과 비슷하며(EI-Zimaity 등 1998), H&E 염색의 경우 *H. pylori*의 검출률이 다른 조직화학염색법들에 비해 낮게 검출된다는 결과와 일치한다(제갈 등, 1999). H&E 염색에서 *H. pylori*

균밀도가 낮게 나타나는 이유로는 H&E 염색은 조직 절편을 의도적으로 과염 시킨 후 과잉 염색된 부분을 산(acid)을 사용하여 제거하기 때문에 이 과정에서 *H. pylori*가 탈색되어 광학현미경하에서 *H. pylori*의 염색성이 약하게 나타나게 되어 검출이 어려운 것으로 보여진다(제갈 등, 1999).

그러나 조직화학염색과 면역조직화학염색을 이용한 *H. pylori*의 검출에 대한 의견에는 다소 차이가 있어, 유 등(2005)은 면역조직화학염색이 *H. pylori*를 재확인하는 방법으로 조직화학염색인 Giemsa 염색보다 *H. pylori*의 검출률이 높아 정확한 검출법이 될 것이라고 보고하였으며, Rotimi 등(2000)도 *H. pylori*의 증명을 위한 염색법들과의 비교 연구한 결과 면역조직화학염색에서 98%, 조직화학염색 90%로 면역조직화학염색에서 *H. pylori*의 검출률이 높게 나타났다고 보고하였다.

그러나 본 연구에서는 이전 보고자들과 다르게 면역조직화학염색에 비해 조직화학염색인 Warthin-Starry와 Giemsa 염색에서 *H. pylori*의 검출률이 높게 나타났다. 이러한 결과는 면역조직화학염색의 경우 표본 상에서 *H. pylori*의 균체 모양이 부정확하게 관찰되어 이 부분의 발색정도만을 가지고 *H. pylori*라고 판단 할 수 없었기 때문에 나타난 결과로 보여진다.

조직화학염색인 Warthin-Starry와 Giemsa의 염색에 있어서 Warthin-Starry 염색의 경우 *H. pylori* 병원체를 저배율에서도 관찰이 용이하여 정확하고 쉽게 확인 할 수 있었지만, Giemsa 염색의 경우 저배율에서 *H. pylori* 병원체가 적은 경우는 염색강도가 다소 약하여 미세한 단백성 과립들과 구별이 쉽지 않아 관찰이 다소 어려워 고배율에서 재확인하는 과정이 필요했다.

위의 염증 정도와 Warthin-Starry 염색법에 의한 *H. pylori*의 검출률 및 출현 균밀도를 조사한 결과 염증의 정도가 심할수록 *H. pylori*의 검출률 및 출현 균밀도가 증가하는 것을 알 수 있었고, 이는 다른 연구결과(Tazawa 등, 1998; 제갈 등, 1999)들과 일치하였다.

이상의 내용을 요약하면 조직 내 *H. pylori* 검출을 위한 염색법으로는 도은법을 이용한 Warthin-Starry 염색법이 임상에서 가장 쉽게 이용 할 수 있을 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Ando T, Goto Y, Maeda O, Watanabe O, Ishiquro K, Goto H. Causal rule of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 12:181-186, 2006.
2. Blaser MJ. Gastric *Campylobacter-like* organisms, gastritis, and peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 93:371-383, 1987.
3. El-Zimaity HMT, Ota H, Scott S, Killen DE, Graham DY. A new triple stain for *Helicobacter pylori* suitable for the autostainer : carbol fuchsin/Alcian blue/hematoxylin-eosin. *Arch Pathol Lab Med* 122: 732-736, 1998.
4. Goodwin CS. How *Helicobacter pylori* acquired its name, and how it overcomes gastric defence mechanisms. *J Gastroenterol Hepatol* 1:S1-3, 1994.
5. Graham DY. *Helicobacter pylori*: its epidemiology and its role in duodenal ulcer disease. *J Gastroenterol Hepatol* 6:105-113, 1991.
6. Hazell SL, Lee A. *Compylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back diffusion, and gastric ulcers. *Lancet* 2(8497):15-17, 1986.
7. Kolts BE, Joseph B, Achem SR, Bianchi T, Monteiro C. *Helicobacter pylori* detection: a quality and cost analysis. *Am J Gastroenterol* 88:650-655, 1993.
8. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev* 19:449-490, 2006.
9. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1(8390):1311-1315, 1984.
10. Misiewicz JJ. The Sydney System: a new classification of gastritis. Introduction. *J Gastroenterol Hepatol* 6:207-208, 1991.
11. Molyneux AJ, Harris MD. *Helicobacter pylori* in gastric biopsies-should you trust the pathology report ? *J R Coll Physicians Lond* 27:119-120, 1993.
12. Moss S, Calam J. *Helicobacter pylori* and peptic ulcers: the present position. *Gut* 33:289-292, 1992.
13. Palmer ED. Investigation of the gastric mucosa spirochetes of the human. *Gastroenterology* 27:218-220, 1954.
14. Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Invasive and non-invasive tests. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 21:299-313, 2007.
15. Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moavvedi P, Dixon MF. Histological identification of *Helicobacter pylori*: Comparison of staining methods. *J Clin Pathol* 53: 756-759, 2000.
16. Steer HW, Colin-Jones DG. Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenoxolone sodium. *Gut* 16:590-597, 1975.
17. Tazawa K, Tsutsumi Y. Effect of prolonged staining with hematoxylin on detecting *Helicobacter pylori* in hematoxylin-eosin-stained gastric mucosa. *Pathol Int* 48:448-452, 1998.
18. 김영배. *Helicobacter pylori* 감염의 병태 생리-병리학 적 측면. 대한 H.pylori 연구회. *Helicobacter pylori* 기초와 임상 의 실제. p77-81, 군자출판사, 서울, 2001.
19. 김양호. *Helicobacter pylori*의 신속한 진단을 위한 연구. 대한임상병리검사학회지 31:112-119, 1999.
20. 김진호. 소화성궤양의 재발방지 대책-*Helicobacter pylori* 치료를 중심으로. 대한소화기학회. 소화성 궤양. p113-122, 군자출판사, 서울, 2002.
21. 서정기. 제균요법 전과 후에 시행한 *Helicobacter pylori* 대변항원검사의 진단적 가치. 대한소화기학회지 44:229-235, 2004.
22. 안혁수, 김인희, 이승욱, 강명재, 김대곤. 헬리코박터 파이로리 제균치료 후 위점막 Matrix Metalloproteinase-9(MMP-9)변화; 면역조직화학연구. 대한소화기학회지 43:90-95, 2004.
23. 유 숙, 백운철, 김종열. Comparative analysis about CLO test, Giemsa stain and Immunohistochemical stain of method for *H. pylori* detection. 전국임상병리사 춘계학술 대회 초록집. 대한임상검사학회, 2005.
24. 윤병철. *Helicobacter pylori*의 진단. 대한 H. pylori 연구회. *Helicobacter pylori* 기초와 임상 의 실제. p153-157, 군자출판사, 서울, 2001.

25. 윤종구, 한석원, 양성은, 박지찬, 이계원 등. 한국 성인에서 *Helicobacter pylori* 감염의 진단에 있어 *Helicobacter pylori* Stool Antigen Test(HpSA)의 진단 정확도. 대한소화기학회지 40:88-93, 2002.
26. 정인식. *Helicobacter pylori* 감염의 진단과 치료. 대한소화기학회. 위염. p89-115, 군자출판사, 서울, 2002.
27. 제갈승주, 차현희, 김신무. 위점막에서 헤마톡실린 염색시간을 연장한 메이어 헤마톡실린-에오신염색에 의한 *Helicobacter pylori-like organism* 검출률과 특수염색법들과의 비교. 대한임상병리검사과학회지 31:236-249, 1999.
28. 최용환. *Helicobacter pylori*의 진단-진단의 실제. 대한 H.pylori연구회. *Helicobacter pylori* 기초와 임상 of 실제. p163-172, 군자출판사, 서울, 2001.