

Χρησιμοποίηση διαγνωστικών μεθόδων σε ενήλικες

Σπύρος Μιχόπουλος

Οι διαγνωστικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (*Hp*) χωρίζονται σε μη επεμβατικές και επεμβατικές (Πίνακας Ι). Η αξία της κάθε δοκιμασίας εξαρτάται από την ευαισθησία και ειδικότητά της. Καμία δοκιμασία δεν είναι τέλεια. Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε, όταν πρόκειται να κρίνουμε μια δοκιμασία, αν αυτή αναφέρεται σε άτομο ή πληθυσμούς καθώς και για ποιο λόγο και πότε γίνεται (π.χ. επιδημιολογικές μελέτες, επανέλεγχος μετά θεραπεία εκρίζωσης κ.λπ.). Οι καταστάσεις που μπορούν να επηρεάσουν την ερμηνεία μιας δοκιμασίας αναζήτησης του *Hp* είναι:

1. Η συχνότητα του *Hp* σε κάποιο πληθυσμό
2. Τα φάρμακα που λαμβάνονται πριν και κατά τη διάρκεια διενέργειας μιας δοκιμασίας
3. Η ευαισθησία και ειδικότητα της δοκιμασίας και το υπό εξέταση κλινικό πρόβλημα.

Ο επιπολασμός του *Hp* σε ένα δεδομένο πληθυσμό μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την προβλεπτική αξία μιας δοκιμασίας. Έτσι αν η επίπτωση του *Hp* είναι 90% μια αρνητική ορολογική δοκιμασία μπορεί να σφάλει στο 63% των

Πίνακας 1. Διαγνωστικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (*Hp*).

Επεμβατικές μέθοδοι	Μη επεμβατικές μέθοδοι
1. CLO-test	1. Ορολογικές μέθοδοι
2. Καλλιέργεια	2. Δοκιμασίες αναπνοής - Breath test
3. Ιστολογική - Ανοσοϊστοχημεία	3. Αναζήτηση του <i>Hp</i> στα κόπρανα
4. PCR	

περιπτώσεων ενώ μια θετική απάντηση πρακτικά δεν σφάλει. Αντίθετα αν η επίπτωση είναι 10% μια αρνητική ορολογική δοκιμασία πρακτικά δεν σφάλει (98% ακρίβεια) ενώ η αξία ενός θετικού αποτελέσματος μειώνεται σημαντικά.¹ Διάφορα φάρμακα όπως οι αναστολείς της αντλίας πρωτονίων (PPI's), το βισμούθιο και τα αντιβιοτικά μπορούν να επηρεάσουν την ευαισθησία και ειδικότητα των δοκιμασιών που στηρίζονται στη δραστηριότητα της ουρεάσης. Συνεπώς η επικύρωση της κάθε δοκιμασίας στην περιοχή που διενεργείται είναι απαραίτητη και πρέπει κατά καιρούς να επαναλαμβάνεται.

Επεμβατικές διαγνωστικές μέθοδοι

Όλες οι δοκιμασίες που στηρίζονται στις βιοψίες υπόκεινται στην πιθανότητα δειγματοληπτικού λάθους. Τα καλύτερα αποτελέσματα σε ασθενείς που δεν λαμβάνουν καμία θεραπεία επιτυγχάνονται με βιοψίες από το άντρο καθώς και από τη γωνία του στομάχου. Αντίθετα σε ασθενείς που λαμβάνουν PPI's προτιμώνται οι βιοψίες από το σώμα.²

Ως μέθοδο αναφοράς για τη σύγκριση των διαφόρων τεχνικών ορισμένοι συγγραφείς είχαν παλαιότερα θεωρήσει την ιστολογική εξέταση. Εντούτοις θα πρέπει να τονισθεί ότι ακόμη και στα πιο έμπειρα χέρια είναι δυνατόν να υπάρχουν ψευδώς θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα και στην ιστολογική εξέταση, κυρίως όταν υπάρχουν χαμηλές πυκνότητες ελικοβακτηριδίων.^{3,4} Επειδή η ιστολογική εξέταση εξαρτάται πολύ από την εμπειρία του Παθολογοανατόμου πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες δοκιμασίες.⁵

α) Καλλιέργεια

Η καλλιέργεια αποτέλεσε τη μέθοδο με την οποία οι B. Marshall και R. Warren ανακάλυψαν το *Hp*. Παρ' όλη την ως ένα βαθμό τυποποίηση της καλλιέργειας σήμερα η μέθοδος δεν αποτελεί απαραίτητο εργαλείο της καθ' ημέρα πράξης. Η πείρα του εργαστηρίου παίζει σημαντικό ρόλο στην αξιοπι-

στία της μεθόδου, αφού σε εξειδικευμένα κέντρα η ειδικότητα της είναι 100% εξ ορισμού. Η ευαισθησία της στα ίδια κέντρα κυμαίνεται μεταξύ 80-95%.

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά καθιστά τη μέθοδο πολύ χρήσιμη σε επιλεγμένους ασθενείς καθώς και στις κλινικές μελέτες.⁶ Σημαντικό ρόλο για την επιτυχία της μεθόδου παίζουν ο τρόπος συντήρησης και ο χρόνος μεταφοράς. Στην περίπτωση που αποφασισθεί gastroσκοπηση για τον έλεγχο επιτυχούς θεραπείας εκρίζωσης του *Hp* η λήψη βιοψίας για καλλιέργεια θεωρείται σημαντική γιατί εκτός από την αξιοπιστία της ως προς την παρουσία του *Hp* μπορεί να μας πληροφορήσει για την ανθεκτικότητα των στελεχών σε όσους δεν θεραπεύτηκαν.⁷ Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων ανθεκτικότητας πρέπει να γίνεται με προσοχή αφού σε πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη βρέθηκε ότι η μέθοδος E-test δίνει συγκρίσιμα αποτελέσματα με το άγαρ σε ότι αφορά την ευαισθησία των μακρολιδίων αλλά καμία από τις δύο μεθόδους δεν δίνει αναπαραγώγιμα αποτελέσματα όταν μελετάται η ευαισθησία της μετρονιδαζόλης.⁸ Η καλλιέργεια αποδείχθηκε εξαιρετικά χρήσιμη αφού πρόσφατα πιστοποιήθηκε παρουσία *Hp* σε κόπρανα και σε εμέσματα με αυτήν.^{9,10} Επίσης η καλλιέργεια επιτρέπει την χρήση ορισμένων μεθόδων μοριακής βιολογίας για την τυποποίηση των στελεχών που βοηθά στις επιδημιολογικές μελέτες αλλά και στις περιπτώσεις επαναμόλυνσης. Τέλος ο ρόλος της είναι απαραίτητος στη μελέτη της παθογένειας του μικροβίου (μελέτη ουρεάσης, κυτταροτοξίνης κ.λπ.).

β) Δοκιμασίες ουρεάσης

Η μεγάλη ποσότητα ουρεάσης του *Hp* διασπά την ουρία που υπάρχει στο υπόστρωμα αυτών των δοκιμασιών, με αποτέλεσμα τη δημιουργία υδροξειδίου του αμμωνίου και αλλαγή του pH που ανιχνεύεται με τη χρήση κάποιου δείκτη, συνήθως του ερυθρού της φαινόλης. Η ποσότητα του *Hp* και η θερμοκρασία καθορίζουν τον χρόνο θετικοποίησης της δοκιμασίας.^{11,12} Η αξία αυτών των δοκιμασιών έγκειται στην ευκολία της χρήσης τους, στην πολύ καλή τους ειδικότητα (ελάχιστα ψευδώς θετικά αποτελέσματα που οφείλονται ως επί το πλείστον σε αποικισμό από *helicobacter heilmannii*) και στο χαμηλό τους κόστος. Για τη διατήρηση της υψηλής ειδικότητας η ανάγνωση δεν πρέπει να πραγματοποιείται μετά από 24 ώρες. Επί πλέον η ανάγνωση προ των 24 ωρών μειώνει σημαντικά την ευαισθησία αφού σε ποσοστό >20% η θετικοποίηση πραγματοποιείται μετά από 2 ώρες.¹³ Μερικές δοκιμασίες ταχείας ανίχνευσης έχουν προσθέσει βακτηριοστατικά για την αναστολή της ανάπτυξης βακτηριδίων με μικρή δραστηριότητα ουρεάσης όπως η Κλεμπσιέλλα και ο Πρωτέας. Η διαγνωστική ακρίβεια της μεθόδου μπορεί σε ορισμένες περιπτώσεις να υπερτερεί της ιστολογικής διάγνωσης.^{5,14} Στις περιπτώσεις που έχει

προηγηθεί θεραπεία εκρίζωσης ή οι βιοψίες έχουν ληφθεί κατά τη διάρκεια αιμορραγίας, η ευαισθησία της μεθόδου μειώνεται σημαντικά.¹⁵⁻¹⁸ Επί αρνητικού αποτελέσματος χρειάζεται επιβεβαίωση με άλλη δοκιμασία ιδιαίτερα αν η κλινική συμπτωματολογία επιμένει (π.χ. ανθεκτικότητα του έλκους).

γ) PCR

Η PCR δεν παρουσιάζει ενδιαφέρον για τη διαπίστωση της λοίμωξης από *Hp* αφού δεν βελτιώνει τη διαγνωστική ακρίβεια των άλλων επεμβατικών μεθόδων και έχει υψηλότερο κόστος. Αντιθέτως βοηθά την εντόπιση μολυσματικών παραγόντων όπως τα *cagA*, *vacA*, *iceA* κ.λπ. Από πλευράς κλινικής πρακτικής, με την εφαρμογή νέων τεχνικών όπως η PCR σε πραγματικό χρόνο (real-time PCR), το κύριο ενδιαφέρον της έγκειται στην ανακάλυψη στελεχών με αντοχή στη κλαριθρομυκίνη μέσα σε λίγες ώρες.¹⁹ Το βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι το κόστος και η ανάγκη εξειδικευμένου εργαστηρίου ενώ ένα από τα πλεονεκτήματά της είναι η δυνατότητα αξιοποίησης βιοψιών που χρησιμοποιήθηκαν για δοκιμασίες ουρεάσης και η αποστολή τους μέσω ταχυδρομείου.

Μη επεμβατικές διαγνωστικές μέθοδοι

Οι μη επεμβατικές μέθοδοι δεν επιτρέπουν τον προσδιορισμό της φύσης της νόσου που μπορεί να συσχετίζεται με την *Hp* λοίμωξη. Χρησιμοποιούνται μόνο εκεί που κρίνεται ότι η ενδοσκόπηση δεν είναι απαραίτητη.

α) Ορολογικές δοκιμασίες

Η συνεχής παρουσία του *Hp* στο στόμαχο έχει ως συνέπεια τη συνεχή παρουσίαση αντιγονικών μορίων και την επακόλουθη ανοσολογική διέγερση. Η ανίχνευση των IgA και κυρίως των IgG αντισωμάτων σήμερα γίνεται κυρίως με ανοσοενζυμικές μεθόδους (ELISA). Άλλες δοκιμασίες στηρίζονται στην ταχεία ανίχνευση με ολικό αίμα ή στην ανοσοκαθήλωση. Οι ανοσοενζυμικές μέθοδοι (ELISA) μπορούν εκτός από τον ποιοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων του *Hp* να μετρήσουν και την ποσότητά τους. Λόγω του σημαντικού βαθμού ετερογένειας της ανοσολογικής απάντησης έναντι των διαφόρων στελεχών του *Hp*, η ποικιλία παρασκευής του αντιγόνου πρέπει να είναι όσο το δυνατόν ευρύτερη.²⁰ Η προσθήκη της αναζήτησης IgA αντισωμάτων δεν προσθέτει στην ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου περισσότερο από αυτή των IgG μόνο.²¹ Για την ποιοτική αναζήτηση του *Hp* οι ταχείες δοκιμασίες ολικού αίματος έχουν μάλλον μικρότερη ακρίβεια από τις ανοσοενζυμικές με-

θόδους, παρά τα ορισμένα καλά αποτελέσματα που αναφέρθηκαν κυρίως στις ΗΠΑ.²²⁻²⁴ Πρόσφατα αναπτύχθηκε μια ανοσο-ενζυματική μέθοδος όπου με μεταφορά μιας σταγόνας αίματος από το δάκτυλο στο εργαστήριο είναι δυνατή η αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων των κλασικών ορολογικών μεθόδων.²⁵ Είναι γνωστό ότι τα αποτελέσματα αυτών των δοκιμασιών σε μια χώρα δεν πρέπει να μεταφέρονται αυτόματα σε μια άλλη. Αυτό αποδείχθηκε και πρόσφατα σε Ελληνικό πληθυσμό καταδεικνύοντας την ανάγκη επικύρωσης τοπικά αυτών των μεθόδων πριν την ευρεία εφαρμογή τους.²⁶ Το πρόβλημα για την παρακολούθηση των ασθενών μετά από εκρίζωση είναι η αργή πτώση των αντισωμάτων αν και μερικοί βρίσκουν τη μέθοδο αρκετά χρήσιμη κυρίως λόγω του χαμηλού κόστους.⁸ Η παρακολούθηση απαιτεί τουλάχιστον 6 μήνες και πτώση μεγαλύτερη του 25% των τίτλων. Ανοσολογικές μέθοδοι που αναπτύχθηκαν για άλλα υγρά του σώματος (ούρα, σίελος) έχουν τραγικά χαμηλά ποσοστά ευαισθησίας.

β) Δοκιμασίες αναπνοής

Οι δοκιμασίες αναπνοής (ΔΑ) με ισότοπα άνθρακος, ^{13}C και ^{14}C , στηρίζονται στην ικανότητα του *Hr* να διασπά την ουρία καθώς και την ταχεία αποβολή του σχηματιζόμενου από τη διάσπαση της CO_2 με την αναπνοής. Επειδή το υπόστρωμα που περιέχει τον σεσημασμένο άνθρακα έρχεται σε επαφή με το σύνολο του στομάχου, η μέθοδος περιορίζει πολύ την πιθανότητα δειγματοληπτικού λάθους. Ο ^{13}C είναι ένα μη ραδιενεργό ισότοπο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί χωρίς περιορισμούς. Το μείζον πρόβλημα για τη χρήση του είναι το υψηλό κόστος. Η μέτρηση αφορά το λόγο $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ σε φασματομετρία μάζας αλλά κατόπιν συμφωνίας τα αποτελέσματα εκφράζονται σε $\Delta^{13}\text{CO}_2$ που εκφράζουν τον εμπλουτισμό σε ^{13}C , σε σχέση με την προ της χορήγησης του ισότοπου πυκνότητα.²⁷ Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη ΔΑ για *Hr* είναι η γαστρική κένωση²⁸ (γι' αυτό συχνά χρησιμοποιούνται επιβραδυντικά γεύματα για τη γαστρική κένωση) και η πυκνότητα του *Hr*.²⁹ Το κιτρικό οξύ θεωρείται καλύτερο από το λιπαρό γέυμα ως επιβραδυντικό της γαστρικής κένωσης, πιθανώς λόγω αύξησης της δραστηριότητας ουρεάσης σε χαμηλό pH.³⁰ Η μέθοδος είναι ιδανική για τον έλεγχο εκρίζωσης του *Hr* και ιδιαίτερα για τα παιδιά και τις εγκύους. Η ΔΑ με ^{14}C στηρίζεται στην ίδια αρχή, αλλά πρόκειται για ραδιενεργό ισότοπο που εκπέμπει χαμηλή ενέργεια τύπου β και επιτρέπει εύκολα να καταμετρηθεί ο αριθμός σπινθηρισμών του εκπνεόμενου $^{14}\text{CO}_2$. Το κόστος είναι πολύ χαμηλό αν και φθηνότερες μέθοδοι για τη χρήση του ^{13}C βρίσκονται υπό διερεύνηση.³¹ Το πρόβλημα είναι ότι ο ^{14}C είναι ραδιενεργό ισότοπο και υπάρχει κάποιος δισταγμός αναφορικά με την ευρεία

χρήση μιας τέτοιας ΔΑ, παρά τις διαβεβαιώσεις όσων την υποστηρίζουν για την πολύ χαμηλή ποσότητα εκπεμπομένης ραδιενέργειας (1μCi). Η μικρή ποσότητα ισότοπου επιβάλλει για τους περισσότερους, για να αποφευχθούν τα συγχυτικά αποτελέσματα που επιφέρει η ουρεάση της οροφαρυγγικής κοιλότητας, την χρήση κάψουλας^{32,33} ή την ταχεία δίοδο από την στοματική κοιλότητα με παράλληλη χορήγηση επιβραδυντικού γεύματος. Οι ΔΑ κυρίως με ¹³C τείνουν να αντικαταστήσουν σε πολλές περιπτώσεις τις παρεμβατικές μεθόδους. Σε μερικές μελέτες μάλιστα ορίζονται και ως μέθοδος αναφοράς για τον έλεγχο της λοίμωξης του *Hp*. Σε πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη φάνηκε ότι σε ένα όχι ασήμαντο ποσοστό (10%) είναι δυνατό σε ορισμένα κέντρα να υπάρχει σημαντική απόκλιση των αποτελεσμάτων των ΔΑ-¹³C με τις μετρήσεις αναφοράς.³⁴ Οι περιορισμοί από την προτέρα χρήση αντιβιοτικών ή αντι-εκκριτικών φαρμάκων πρέπει να τηρούνται αυστηρά. Στην αντίθετη περίπτωση η αξιοπιστία της δοκιμασίας μειώνεται σημαντικά.³⁵

γ) Αναζήτηση του *Hp* στα κόπρανα

Τα τελευταία έτη κατέστη δυνατή η καλλιέργεια του *Hp* στα κόπρανα. Παρά τις όποιες τεχνικές δυσκολίες αυτό οδήγησε στη δημιουργία μιας σειράς διαγνωστικών δοκιμασιών που αναγνωρίζουν τα βακτηριακά αντιγόνα στα κόπρανα. Η ανοσοενζυματική μέθοδος αναζήτησης αντιγόνων του *Hp* είναι η πλέον κλινικά δοκιμασμένη και διαδεδομένη (HpSA). Η δοκιμασία χρησιμοποιεί πολυκλωνικά αντισώματα έναντι του *Hp*. Τα κόπρανα μπορούν να διατηρηθούν στους 2-8°C για 3 ημέρες ή επ' αόριστον στους -20°C. Μετά από επεξεργασία ακολουθεί φασματομετρική ανάλυση και ανάγνωση των τιμών που καθορίζονται σε αρνητικές, αμφισβητούμενες (όπου χρειάζεται επανάληψη της δοκιμασίας) και θετικές για την παρουσία *Hp*. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου πλησιάζει αυτήν της ΔΑ στους ασθενείς πριν από την εκκρίωση του *Hp*.^{36,37} Τα αποτελέσματα για την αναζήτηση του *Hp* μετά από τη θεραπεία εκκρίωσης είναι αντικρουόμενα, με ευαισθησία 85,7-93,8% και ειδικότητα 68,3-96,9%.³⁸⁻⁴⁰ Οι περισσότερες πάντως μελέτες βρίσκουν ότι οι δοκιμασίες που χρησιμοποιούν πολυκλωνικά αντισώματα υστερούν σε σχέση με τις ΔΑ.⁴¹ Η χορήγηση ομεπραζόλης μειώνει τη διαγνωστική ακρίβεια τόσο των ΔΑ όσο και του HpSA.⁴² Μείωση της διαγνωστικής ακρίβειας του HpSA φαίνεται επίσης ότι συμβαίνει μετά από χρήση Ν-ακέτυλ κυστεΐνης καθώς και στους κίρρωτικούς ασθενείς.^{43,44} Οι πρώτες διαθέσιμες μελέτες με μονοκλωνικά αντισώματα δείχνουν ότι παρουσιάζουν βελτίωση σε σχέση με τα πολυκλωνικά ως προς την ευαισθησία της δοκιμασίας μετά από θεραπεία εκκρίωσης ενώ η ειδικότητα παραμένει ίδια.^{45,46}

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Επί του παρόντος καμία δοκιμασία για την αναζήτηση του *Hp* δεν έχει απόλυτη διαγνωστική ακρίβεια γι' αυτό πρέπει να γνωρίζουμε τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα αυτών που χρησιμοποιούμε.⁴⁷ Εάν επιλεγεί η στρατηγική "test and treat", οι ΔΑ κυρίως ή εναλλακτικά οι δοκιμασίες αναζήτησης του *Hp* στα κόπρανα είναι αυτές που πρέπει να προτιμώνται. Εξ άλλου οι ίδιες δοκιμασίες είναι χρήσιμες και για τον έλεγχο επιτυχούς εκρίζωσης του *Hp* στο βαθμό που κριθεί ότι δεν χρειάζεται επανάληψη της ενδοσκόπησης και των βιοψιών (στις περιπτώσεις που η ενδοσκόπηση επελέγη για τον αρχικό έλεγχο). Η τήρηση των περιορισμών εφαρμογής αυτών των μεθόδων (χρονική απόσταση από λήψη αντιβιοτικών ή αντιεκκριτικών κ.λπ.) θεωρείται απαραίτητη προϋπόθεση για τη μεγιστοποίηση της ακρίβειας του αποτελέσματος. Οι ορολογικές δοκιμασίες βοηθούν στην αρχική εκτίμηση όταν οι άλλες μέθοδοι δίδουν αντικρουόμενα αποτελέσματα (π.χ. αιμορραγικό έλκος, λήψη αντιβιοτικών ή αντιεκκριτικών κ.λπ.) και παράλληλα απαιτείται γρήγορη διάγνωση του *Hp*. Οι καλλιέργειες βοηθούν στις περιπτώσεις ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά, νέες δε μέθοδοι γρήγορου προσδιορισμού της ανθεκτικότητας στην κλαριθρομυκίνη (PCR) βρίσκονται σε εξέλιξη. Δεν πρέπει να ξεχνούμε ότι η ενδοσκόπηση και η λήψη βιοψιών εξακολουθούν να αποτελούν τη βάση για την ορθότερη διάγνωση των παθήσεων του πεπτικού και η προσφυγή σε αυτές δεν πρέπει να καθυστερεί αν υπάρχει η κλινική ή η ηλικιακή ένδειξη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Loy CT, Irwig LM, Katelaris PH, Talley NJ. Do commercial serological kits for *Helicobacter pylori* infection differ in accuracy? *Am J Gastroenterol* 2000;91:1138-44.
2. Logan RP, Walker MM, Misiewicz JJ, et al. Changes in the intragastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole. *Gut* 1995;36:12-6.
3. Faigel DO, Childs M, Furth EE, et al. New noninvasive tests for *Helicobacter pylori* gastritis. Comparison with tissue-based gold standard. *Dig Dis Sci* 1996;41:740-8.
4. El-Zimaity HM, Graham DY, Al-Assi MT, et al. Interobserver variation in the histopathological assessment of *Helicobacter pylori* gastritis. *Hum Pathol* 1996;27:35-41.
5. Maconi G, Vago L, Galletta G, et al. Is routine histological evaluation an accurate test for *Helicobacter pylori* infection? *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:327-31.
6. Clupczynski Y, Langenberg W, Dankert J, et al. Results of a multicenter European survey in 1991 of metronidazole resistance in *Helicobacter pylori* - European study group on antibiotic susceptibility of *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992;11:777-81.

7. Van der Wouden EJ, Thijs JC, van Zwet AA, et al. Reliability of biopsy-based diagnostic tests for *Helicobacter pylori* after treatment aimed at its eradication. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:1255-8.
8. Glupczynski Y, Broutet N, Cantagrel A, et al. Comparison of the E test and agar dilution method for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002;21:549-52.
9. Parsonnet J, Shmueli H, Haggerty F. Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* for healthy infected adults. *JAMA* 1999;282:2240-5.
10. Leung WK, Slu KLK, Kwok CKL, et al. Isolation of *Helicobacter pylori* from vomitus in children and its implication in gastro-oral transmission. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2881-4.
11. Laine L, Lewin D, Naritoku W, et al. Prospective comparison of commercially available rapid urease tests for diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointestinal Endoscopy* 1996;44:429-32.
12. Michopoulos S, Sotiropoulou M, Vougiadiotis I, et al. Does a second biopsy specimen increase CLO-test accuracy for *Helicobacter pylori* (HP) detection after eradication treatment in duodenal ulcer (DU) patients? *Gut* 1996;39:A223.
13. Prince MI, Osborne JS, Ingoo L, et al. C<O>-test in UK: inappropriate reading and missed results. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:1251-4.
14. Michopoulos S, Balta A, Mentis A, et al. Invasive methods and clinical follow up to estimate *H. pylori* eradication success. *Gastroenterology* 1998;114:A227.
15. Kalantar J, Xia HH-X., Ma Wyatt J, et al. Determination of optimal biopsy sites detection of *H. pylori* in patients treated and not treated with antibiotics and anti-secretory drugs. *Gastroenterology* 1997;A165.
16. Colin R, Bigard MA, Notteghem B, et al. Poor sensitivity of direct tests for detection of *Helicobacter pylori* on antral biopsies in bleeding ulcers (BU). *Gastroenterology* 1997;A93.
17. Michopoulos S, Bouzakis H, Sotiropoulou M, et al. Does a second regimen of omeprazole plus amoxicillin increase the success rate of *H. pylori* (HP) eradication in patients with duodenal ulcer? *Gastroenterology* 1996;110:A195.
18. Archimandritis A, Tzivras M, Sougioultzis S, et al. Rapid urease test is less sensitive than histology in diagnosing *Helicobacter pylori* infection in patients with non-variceal upper gastrointestinal bleeding. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:369-73.
19. Oleastro M, Menard A, Santos A, et al. Real-time PCR assay for rapid and accurate detections of point mutations conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2003;41:397-402.
20. Ernst PB, Lin Y, Navarro J, Reyes V, Crowe S. Overview of the immune response to *H. pylori* In: Hunt RH, Tytgat GNJ ed, *Helicobacter pylori*, Basic Mechanisms to Clinical cure. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994:295-305.
21. Karvar S, Karch H, Frosch M, et al. Use of serum-specific immunoglobulins A and G for detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with chronic gastritis by immunoblot analysis. *J Clin Microbiol* 1997;35:3058-61.

22. Wong BCY, Wong WM, Tang VSY, et al. An evaluation of whole blood testing for *Helicobacter pylori* infection in the Chinese population. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:331-5.
23. Laine L, Knigge K, Faigel D, et al. Fingerstick *Helicobacter pylori* antibody test: better than laboratory serological testing? *Am J Gastroenterol* 1999; 94:3464-7.
24. Faigel DO, Magaret N, Corless C, et al. Evaluation of rapid antibody tests for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2000;95: 72-7.
25. Kearney DJ, Boes L, Peacock JS. Use of a dried plasma collection card for simplified diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:1531-4.
26. Ladas SD, Malamou H, Triantafyllou K, et al. Performance of two immunosorbent assay kits for the detection of serum immunoglobulin G to *Helicobacter pylori* in untreated Greek patients. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:512-6.
27. Logan RPH, Dill S, Bauer FE, et al. The European ¹³C -urea breath test for detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991;3:915-21.
28. Perri F, Ghos YF, Maes BD, et al. Gastric emptying and *Helicobacter pylori* infection in duodenal ulcer disease. *Dig Dis Sci* 1996;41:462-8.
29. Hiker E, Domschke W, Stoll R. ¹³C -urea breath test for detection of *Helicobacter pylori* and its correlation with endoscopic and histologic findings. *J Physiol Pharmacol* 1996;47:79-90.
30. Leodolter A, Dominguez-Munoz JE, von Armin U, et al. Validity of a modified ¹³C-urea breath test for pre- and posttreatment diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in the routine clinical setting. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2100-4.
31. Koletzko S, Haisch M, Seeboth I, et al. Isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for detection of *Helicobacter pylori* infection with ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1995;345:961-2.
32. Peura DA, Pambianco DJ, Dye KR, et al. Microdose ¹⁴C-urea breath test offers diagnosis of *Helicobacter pylori* in 10 minutes. *Am J Gastroenterol* 1996;91:233-8.
33. Faigel DO, Childs M, Furth EE, et al. New noninvasive tests for *Helicobacter pylori* gastritis. Comparison with tissue-based gold standard. *Dig Dis Sci* 1996;41:740-8.
34. Perri F, Zagari RM, Uebersax JS, et al. An inter- and intra- laboratory comparison of breath ¹³CO₂ analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:1291-7.
35. Savarino V, Bisso G, Pivari M, et al. Effect of gastric acid suppression on ¹³C-urea breath test: comparison of ranitidine with omeprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:291-7.
36. Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection using a novel, noninvasive antigen based assay in a European multicenter study. *Lancet* 1999;354:30-3.
37. Archimandritis A, Giontzis A, Smilakon S, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection by HpSA test. *Lancet* 1999;2:1210-1.
38. Makristathis A, Pasching E, Schutze K, et al. Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1998;36:2772-4.

39. Trevisani L, Sartori S, Galvani F, et al. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in faeces; a prospective pilot study. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1831-3.
40. Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, et al. Non-invasive antigen based assay for assessing *Helicobacter pylori* eradication. A European multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2000;95:925-9.
41. Bilardi C, Biagni R, Dulbecco P, et al. Stool antigen assay (HpSA) is less reliable than urea breath test for post-treatment diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1733-8.
42. Manes G, Balzano A, Iaquinto G, et al. Accuracy of the stool antigen test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before treatment and in patients on omeprazole therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:73-9.
43. Demirturk L, Yazgan Y, Tarcin O, et al. Does N-acetyl cystein affect the sensitivity and specificity of *Helicobacter pylori* antigen test? *Helicobacter* 2003;8:120-3.
44. Calvet X, Sanfeliu I, Musulen E, et al. Evaluation of *Helicobacter pylori* diagnostic methods in patients with liver cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1283-9.
45. Makristathis A, Barousch W, Pasching E, et al. Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *J Clin Microbiol* 2000;38:3710-4.
46. Leodolter A, Peitz U, Ebert MP, et al. Comparison of two enzyme immunoassays for the assessment of *Helicobacter pylori* status in stool specimens after eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1682-6.
47. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, et al. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht 2000 Consensus report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:167-80.