**Research Paper**

# Recent advances in the diagnosis of Helicobacter pylori infection

**Reza Ghotaslou[1], Tahereh Pirzadeh[2], Aylin Esmailkhani[3], Abed Zahedi Bialvaei[4], Hamed Ebrahimzadeh Leylabadlo[5] ***

1. Full Professor, Department of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
3. MS.c in Medical Microbiology, Department of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4. Ph.D, Microbial Biotechnology Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Ph.D, Liver and Gastrointestinal Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

**Received:** 2020/02/01 **Accepted:** 2020/05/27

## Abstract

**Introduction:** Helicobacter pylori infection represents a key factor in the etiology of the various gastrointestinal diseases, ranging from chronic active gastritis without clinical symptoms to peptic ulceration, gastric adenocarcinoma, and gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. This review concerns some of the most recent developments in diagnostic methods of H. pylori infection and it has been studied in different clinical conditions.

**Materials and Methods:** In the present study, articles published in reputable international scientific databases such as PubMed and Scopus were used. In this study, published articles on Helicobacter pylori infection and its diagnosis were reviewed, and articles that were not open access were excluded from the study.

**Results:** Different invasive and non-invasive diagnostic tests are available for diagnosing *H.pylori*, and each test has advantages and limitations in different clinical settings. Although none of the methods are considered a gold standard in clinical practice, several techniques have been developed to provide more reliable results. Only highly accurate tests should be used in clinical practice, and the sensitivity and specificity of an adequate test should exceed 90%.

**Conclusion:** According to that, there are several diagnostic tests to detect *H.pylori*, the selection of the relevant test should take into account all factors including clinical conditions, the probability ratio of positive and negative tests, cost-effectiveness, relevant strategies, and their availability.

***Corresponding Author:** Hamed Ebrahimzadeh Leylabadlo
**Address:** Liver and Gastrointestinal Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
**Tel:** +041-33354844
**E-mail:** hamedebr7@gmail.com

**Keywords:** Culture, Diagnosis, Endoscopy, Helicobacter pylori, Histology

**How to cite this article:** Ghotaslou R., Pirzadeh T., Esmailkhani A., Zahedi Bialvaei A., Ebrahimzadeh Leylabadlo H. Recent advances in the diagnosis of Helicobacter pylori infection, Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 2022; 29(2):179-194.

Copyright © 2022 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

## Introduction

Helicobacter pylori infection represents a key factor in the etiology of the various gastrointestinal diseases, ranging from chronic active gastritis without clinical symptoms to peptic ulceration, gastric adenocarcinoma, and gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. Helicobacter pylori is a gram-negative and microaerophilic Bacilli which is often seen in the gastric mucosa as a spiral and in culture as curved. This bacterium is the cause of diseases such as gastritis, gastric ulcers, gastric cancer, and mucosa-associated lymphoid tissue. Gastric cancer and peptic ulcer together cause more than a million deaths per year in the world and H. pylori infection always is an important health issue. Infection with this bacterium is widespread throughout the world; so in developing countries, it reaches more than 80%; but diseases related to H.pylori occur in only 10-20% of these populations. There are various diagnostic methods for diagnosing H.pylori infection. Diagnostic tests with high sensitivity and specificity are available and testing in more than 90% is necessary to accurately diagnose H.pylori infection in the clinic. A proper diagnostic test varies depending on its availability and access to diagnostic tests, the level of laboratories, patients' clinical conditions, and the probability ratio of positive and negative tests in clinical conditions. Helicobacter pylori infection represents a key factor in the etiology of the various gastrointestinal diseases, ranging from chronic active gastritis without clinical symptoms to peptic ulceration, gastric adenocarcinoma, and gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. This review concerns some of the most recent developments in diagnostic methods of H. pylori infection and it has been studied in different clinical conditions. In this review article, we will briefly study the current options and recent advances in diagnostic tests and their related applications in clinical practice, as well as choosing diagnostic tests in different clinical conditions.

## Methodology

The current review study was conducted using PubMed and Scopus databases. In these databases, keywords such as H.pylori, Diagnosis, Invasive, non-invasive, histology, real-time PCR, serology, stool antigen test were used. According to the results of the search from 2015 to 2020, a total of 38 studies related to the purpose of the study were reviewed.

## Results

H.pylori diagnosis infection may be done by invasive methods (using endoscopy) or non-invasive methods (without using endoscopy). Some of these methods take a long time to reach the diagnostic stage; so, finding a quick method with less time for diagnosing H.pylori infection is required. Although none of the methods are considered a gold standard in clinical practice, several techniques have been developed to provide more reliable results. Only highly accurate tests should be used in clinical practice, and the sensitivity and specificity of an adequate test should exceed 90%. General endoscopic examination is often done for diagnosing diseases related to Helicobacter pylori such as gastric ulcers, atrophic gastritis, mucosa-associated lymphoid tissue, and gastric cancer. The Antrum area is an area that is preferred for biopsy to diagnose H.pylori infection in most conditions, but corpus biopsy is recommended for patients with antral atrophy or intestinal metaplasia to prevent false-negative results. In the direct diagnosis of Helicobacter pylori infection, histology is often considered the gold standard and is also the first method that is used to diagnose H.pylori infection. However, several factors affect diagnosing histological accuracies such as location, size and number of biopsies, staining procedures, proton pump inhibitors, antibiotics, and proficiency in the examination of tissue pathology in this method. The Rapid Urease Test is one of the most useful invasive tests for diagnosing H.pylori infection because it is cheap, fast, convenient, high property and widely available. According to the urease activity of H.pylori, the presence of bacteria in biopsy specimens the urea reagent converts to ammoniac will lead to an increase in pH and discoloration. Culture of H.pylori from gastric biopsy specimens is a specific but low-sensitivity method. Generally, culture has almost 100% specification, but culture sensitivity shows significant changes between 85%-95%. PCR is used for diagnosing H.pylori infection from specimens of gastric biopsy, saliva, stool, gastric juice and other samples. PCR technique has sensitivity and specificity of more than 95% compared to other conventional tests and has more

accurate results, especially in the diagnosis of H.pylori in patients with gastrointestinal bleeding.

The urea breath test has been used for almost 30 years and is still the most popular and accurate non-invasive test for diagnosing H.pylori. The method is based on H.pylori urease activity, labeled urea (13C and 14C) is ingested by the patient and hydrolyzed to $CO_2$ in the stomach, then labeled $CO_2$ is absorbed into the blood and exhaled labeled $CO_2$ will be measured during respiration. The stool antigen test is another non-invasive method with proper sensitivity and specificity of 94% and 97%, respectively, in the diagnosis of H.pylori infection. Various serological tests based on the diagnosis of anti-Helicobacter pylori IgG antibodies are available for diagnosing H.pylori, and the enzyme immunoassay test is the most common and accurate method among them.

## Discussion

There are various diagnostic tools for the identification of H.pylori infections. However, a single gold popular technique can also no longer be recommended by relying on the laboratory services and patient conditions in clinical practice. Effective management of gastrointestinal problems relied on the accurate identification of H.pylori in the early stage of infections. Invasive methods generally rely on the upper abdomen endoscopy and biopsy sampling and non-invasive methods consist of stool antigen, urea breath tests, serological and molecular examinations.

The urea breath test is primarily based on the assessment of the converted urea into carbon dioxide and the usage of a radioactive isotope of carbon in urea. Despite the higher cost of 13C and its need for spectrometry, to keep away from radiation exposure, this isotope is preferable in pediatric and pregnant patients. The stool antigen test is primarily based on the identification of the H. pylori antigens through the use of immunochromatography and enzyme immunoassay techniques in stool samples. Different polyclonal and monoclonal kits have been developed to identify H. pylori antigens, however, according to current findings; monoclonal kits had greater sensitivity and specificity.

There are different methods to measure released antibodies against H.pylori which can reveal the previous or current exposure history of infection. Serologic tests are fast, inexpensive, and easy to use which do not require any special expertise to apply. However, it is still controversial whether serologic tests can distinguish between current and past infections. Assessment of H.pylori antibodies in urine or saliva is an incredibly new technique of diagnosis with remarkable sensitivity and specificity. Lower concentration of antibodies in urine or saliva samples compare d to the concentration of antibodies in serum-based diagnostic techniques may avoid accurate identification of H.pylori infection.

As a common method, culture is not routinely used as a diagnostic technique for H.pylori infections. This test is more utilized when antibiotic resistance is suspected and prior therapy has failed, allowing antibiogram testing and phenotypic and genotypic studies through organism isolation. The rate of isolation varies between different laboratories because of microbial contamination. Traditional effects are extraordinarily based on microbiologists' experience, quality of sample, aerobic environment exposure and alcohol drinking, and bleeding antibiotic and PPI usage.

PCR is one of the molecular methods that can detect the specific regions of H.pylori DNA that exist in gastric biopsies, gastric juice, saliva, dental plaques, and stool of patients. PCR-based detections can be classified into invasive and non-invasive approaches. Some of the H.pylori genes such as vacA, cagA, ureA, glmM, hsp60, 16S rRNA, 23S rRNA, and ureC (glmM) can be used for designing primers. This method can also be used for the detection of antibiotic resistance mutations and would help choose an appropriate treatment strategy. Some of the main disadvantages of PCR are the high cost of the test and requires a lot of skill and experience. Also, false-positive results occur due to its detection of killed bacteria DNA fragments.

## Conclusion

In recent years, continuous and many efforts have been made to obtain safer, easier and practical diagnostic methods for H.pylori infection. With the development of current diagnostic methods, it is possible to more accurately diagnose Helicobacter pylori infection, which in turn is associated with improvement of H.pylori-related diseases management. Although there may not be a test as the gold standard, choosing the proper test for diagnosing H.pylori infection and H.pylori strains in endemic areas depends on the availability, facilities, advantages and disadvantages of each

method, as well as different clinical conditions of each patient. In the future, the current methods will be evolved and their performance will be improved so that these methods can be effective in diagnosing H.pylori infection for different clinical purposes and in specific populations and certain genotypic characteristics. According to that, there are several diagnostic tests to detect H.pylori, the selection of the relevant test should take into account all factors including clinical conditions, the probability ratio of positive and negative tests, cost-effectiveness, relevant strategies, and their availability. According to that, there are several diagnostic tests to detect H.pylori, the selection of the relevant test should take into account all factors including clinical conditions, the probability ratio of positive and negative tests, cost-effectiveness, relevant strategies, and their availability.

## Acknowledgment

The authors would like to express their gratitude to the Liver and Gastrointestinal Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

## Conflict of Interest

The authors state that there is no conflict of interest in the present study.

مقاله پژوهشی

# پیشرفت‌های اخیر در تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری

رضا قوطاسلو[1]، طاهره پیرزاده[2]، آیلین اسمعیل‌خانی[3]، عابد زاهدی بیالوایی[4]، حامد ابراهیم‌زاده لیل آبادلو[5*]

۱. استاد، گروه باکتری‌شناسی و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران شناسه
۲. استادیار، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳. کارشناسی‌ارشد میکروب شناسی پزشکی، گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۴. دکترای تخصصی باکتری‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
۵. دکترای تخصصی باکتری‌شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۰۷

* نویسندهٔ مسئول: حامد ابراهیم‌زاده لیل آبادلو
**نشانی:** مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
**تلفن:** ۳۳۳۵۴۸۴۴-۰۴۱
**رایانامه:** hamedebr7@gmail.com
**شناسه ORCID:** 0000-0002-3790-9176
**شناسه ORCID نویسنده اول:** 0000-0003-4762-3558

## چکیده

**زمینه و هدف:** هلیکوباکتر پیلوری، عامل اصلی بیماری‌های مختلف دستگاه گوارش شامل گاستریت مزمن فعال، بدون علائم بالینی تا زخم گوارشی، آدنوکارسینوم معده و لنفوم بافت لنفاوی مرتبط با مخاط معده است. هدف از این مطالعه بررسی پیشرفت های اخیر در روش های تشخیصی عفونت هلیکوباکتر پیلوری در شرایط بالینی مختلف می‌باشد.

**روش کار:** در مطالعه حاضر، از مقالاتی که در پایگاه‌های علمی معتبر بین‌المللی از جمله Pub Med و Scopus منتشر شده بودند استفاده گردید. در این مطالعه، مقالات منتشر شده درباره عفونت هلیکوباکتر پیلوری و تشخیص آن بررسی شدند و مقالاتی که امکان دسترسی آزاد ( Opean Acess) نداشتند از مطالعه حذف شدند.

**یافته‌ها:** آزمایش‌های تشخیصی تهاجمی و غیرتهاجمی مختلفی برای تشخیص باکتری هلیکوباکتر پیلوری در دسترس می‌باشد و هر آزمایش مزایا و محدودیت‌هایی در شرایط مختلف بالینی دارد. اگرچه هیچ‌کدام را نمی‌توان به‌عنوان یک استاندارد طلایی در عمل بالینی در نظر گرفت اما تکنیک‌های متعددی برای ارائه نتایج قابل اطمینان‌تر توسعه یافته است. در تشخیص بالینی هلیکوباکتر پیلوری باید از آزمایش‌هایی استفاده شود که از دقت بالایی برخوردار هستند، به‌طوری که حساسیت و ویژگی بیش از ۹۰ درصد داشته باشد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به اینکه آزمایش‌های تشخیصی مختلفی برای تشخیص باکتری هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد در انتخاب آزمایش مربوط باید همه موارد از جمله شرایط بالینی، نسبت احتمال آزمایش‌های مثبت و منفی، مقرون‌به‌صرفه بودن، استراتژی‌های مربوطه و در دسترس بودن آن‌ها در نظر گرفته شود.

**کلیدواژه‌ها:**
هلیکوباکتر پیلوری، تشخیص، آندوسکوپی، بافت‌شناسی، کشت

## ۱. مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری[1] یک پاتوژن انسانی گرم منفی و بیماری زا است. عفونت با این باکتری با بسیاری از بیماری‌های معده از جمله گاستریت مزمن فعال، بیماری‌های زخم معده، زخم دوازدهه، گاستریت آتروفیک، لنفوم بافت لنفوئیدی مرتبط با مخاط (MALT)

1- Helicobacter pylor

Copyright © 2022 Sabzevar University of Medical Sciences. This work is licensed under a Creative Commons Attribution- Non Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.
Published by Sabzevar University of Medical Sciences.

و سرطان معده مرتبط است. عفونت هلیکوباکتر پیلوری بیش از نیمی از جمعیت بزرگسال در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد اما شیوع آن نسبت به منطقه جغرافیایی، سن، نژاد و وضعیت اقتصادی متفاوت است. معمولاً شیوع هلیکوباکتر پیلوری با افزایش سن در اغلب کشورها افزایش می‌یابد [۱] بیش از ۸۰ درصد بیماری‌های زخم معده و دوازدهه در اثر عفونت با هلیکوباکتر پیلوری است [۲و۳] سرطان معده، سومین علت مرگ ناشی از سرطان در سراسر جهان است و عفونت هلیکوباکتر پیلوری مسئول ۷۴.۷ درصد از موارد سرطان معده غیرکاردیا می‌باشد. سرطان معده و زخم معده در کنار هم باعث بیش از یک میلیون مرگ در هر سال در جهان است و همیشه عفونت هلیکوباکتر پیلوری یک مسئله مهم بهداشتی می‌باشد. روش‌های تشخیصی مختلفی برای شناسایی عفونت هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد. آزمایش‌های تشخیصی با حساسیت و ویژگی بالا در دسترس هستند و انجام آزمایش در بیش از ۹۰ درصد برای تشخیص دقیق عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بالین ضروری است [۵,۴]. اکنون بسیاری از آزمایش‌های تشخیصی موجود است اما هر روش مزایا، معایب و محدودیت‌های خاص خود را دارد. انتخاب یک روش مناسب بستگی به در دسترس بودن آن و دسترسی به آزمایش‌های تشخیصی، سطح آزمایشگاه‌ها، شرایط بالینی بیماران و نسبت احتمال آزمون مثبت و منفی در شرایط بالینی، متفاوت است. در این مقاله، مروری بر گزینه‌های فعلی و پیشرفت‌های اخیر در آزمایش‌های تشخیصی و کاربردهای مرتبط با آن در اقدامات بالینی و همچنین انتخاب آزمایش‌های تشخیصی در شرایط مختلف بالینی را انجام گرفته است.

## ۲. مواد و روش‌ها

مطالعه مروری حاضر با استفاده از پایگاه‌های علمی PubMed و Scopus و با استفاده از کلمات کلیدی همچون Helicobacter pylori، Diagnosis، Invasive، non-invasive، histology، real-time PCR، serology، stool antigen test انجام شد. براساس نتایج جستجو از سال ۲۰۱۵ تا ۲۰۲۰ میلادی در مجموع ۳۸ مطالعه مرتبط با هدف پژوهش بررسی شد.

## ۳. یافته‌ها

### روش‌های تشخیصی عفونت هلیکوباکتر پیلوری

تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری ممکن است توسط روش‌های تهاجمی (با استفاده از آندوسکوپی) یا روش‌های غیرتهاجمی (بدون استفاده از آندوسکوپی) انجام شود (شکل ۱). بعضی از این روش‌ها برای رسیدن به مرحله تشخیص وقت زیادی می‌گیرند؛ بنابراین یافتن روشی سریع با زمان کمتر برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری مورد نیاز است. همچنین انتخاب آزمایش تشخیصی مناسب در شرایط مختلف بالینی مختلف بررسی شد (جدول ۱).

**جدول ۱. مقایسه روش‌های تشخیص عفونت با هلیکوباکتر پیلوری در شرایط بالینی مختلف و کاربردهای بالینی آن‌ها**

| | خونریزی معده | بعد از گاستر کتومی | پس از ریشه‌کنی عفونت | موارد خاص |
|---|---|---|---|---|
| **آزمایش اوره آز سریع** | | ✓ | | |
| **بافت‌شناسی** | | ✓ | | |
| **کشت** | | | | ✓ حساسیت آنتی‌بیوتیکی |
| **واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)** | ✓ | | ✓ | ✓ حساسیت آنتی‌بیوتیکی<br>✓ فاکتورهای بیماری‌زا<br>✓ نمونه محیطی / دهانی |
| **آزمایش اوره آز تنفسی** | ✓ | | ✓ | |
| **آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی** | | | ✓ | |
| **سرولوژی** | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ فاکتورهای بیماری‌زا[1] |

[1] اگرچه آزمایش سرولوژی تحت تأثیر تغییرات موضعی معده قرار نمی‌گیرد، نتیجه آزمایش سرولوژی باید قبل از مدیریت بیشتر با احتیاط بیشتری تفسیر شود

2-chromo endoscopy

## روش‌های تهاجمی

### ۱. آندوسکوپی

معاینه آندوسکوپی معمولی اغلب به‌منظور تشخیص بیماری‌های مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری مانند بیماری زخم معده، گاستریت آتروفیک، لنفوم MALT و سرطان معده انجام می‌گیرد [۷،۶]. علاوه بر آندوسکوپی معمولی، کروموآندوسکوپی[۲] با فنل قرمز نیز به‌منظور تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری براساس فعالیت اوره آز خاص این باکتری ارزیابی گردید [۹،۸]. با این حال، این روش به دلیل حساسیت کم (۸۱ -۷۳ درصد) و همچنین ویژگی پایین (۸۱ -۷۶ درصد) آزمایش قابل اعتمادی نمی‌باشد [۱۱،۱۰]. تصویربرداری آندوسکوپی مشاهده مستقیم سطح ساختاری مخاط معده را فراهم می‌کند. الگوهای آندوسکوپی با وضوح بالا از مخاط معده با تغییرات بافت‌شناسی ناشی از عفونت هلیکوباکتر پیلوری بسیار مرتبط است. حساسیت و ویژگی پیش‌بینی‌شده گاستریت کورپورال با هلیکوباکتر پیلوری و با استفاده از آندوسکوپی میکروسکوپیک با رنگ‌آمیزی به‌ترتیب ۹۷/۶ و ۱۰۰ درصد گزارش شده و میزان حساسیت و ویژگی در گاستریت آنترال هلیکوباکتر پیلوری مثبت به ۸۸.۴ و ۷۵.۰ درصد کاهش می یابد [ ۱۲ ]. آندومیکروسکوپی لیزر کانفوکال ( (CLEجزو سایر روش‌های آندوسکوپی لیزری است که قسمت زیرسطحی بافت مخاط معده در داخل بدن را با آندوسکوپی بررسی و تجزیه‌وتحلیل می‌کند. سه ویژگی از جمله نقطه‌های سفید، نوتروفیل‌ها و میکروآبسه‌ها، براساس یافته‌های CLE، به‌منظور تشخیص و صحت هلیکوباکتر پیلوری ارزیابی گردید و حساسیت و ویژگی آن به‌ترتیب ۹۲/۸، ۸۹/۲ و ۹۵/۷ درصد گزارش شد [۱۴،۱۳]. طبقه‌بندی‌های مختلف با ویژگی‌های تصویربرداری آندوسکوپی، دقت تشخیصی متفاوتی را ارائه می‌دهد و دقت آزمایش آندوسکوپی نیز به عملکرد آن وابسته می‌باشد و بدان معنی است که استفاده از آن نیازمند آموزش و تکنسین با تجربه و دسترسی به تجهیزات در واحد آندوسکوپی می‌باشد [۱۶،۱۵]. همچنین، معاینه دقیق با استفاده از تصویربرداری یا بدون تکنیک تصویربرداری، زمان‌بر است و نسبت به سایر آزمایش‌ها مبتنی بر بیوپسی، باعث ناراحتی بیشتری برای بیمار می‌شود. این عوامل معمولاً استفاده بالینی از آندوسکوپی ذره‌بین را برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری را به‌صورت روتین محدود می‌کنند.

### ۲. بافت‌شناسی

در تشخیص مستقیم عفونت هلیکوباکتر پیلوری، بافت‌شناسی، اغلب استاندارد طلایی محسوب می‌شود و همچنین اولین روشی است که برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری استفاده می‌شود. با این حال، چندین عامل در دقت تشخیصی بافت‌شناسی مانند محل، اندازه و تعداد بیوپسی‌ها، روش‌های رنگ‌آمیزی، مهارکننده‌های پمپ پروتون ((PPI، آنتی‌بیوتیک‌ها و مهارت در بررسی آسیب‌شناسی بافت در این روش تأثیرگذار است. استفاده از مهارکننده پمپ پروتونی ممکن است منجر به نتایج بحث‌برانگیز آزمایش بافت‌شناسی شود؛ بنابراین قطع مصرف آن دو هفته قبل از انجام آزمایش بافت‌شناسی توصیه می‌گردد (۱۷). بیشتر نمونه‌های بیوپسی جمع‌آوری‌شده از ناحیه مناسب به‌منظور بررسی می‌تواند باعث کاهش خطای نمونه‌گیری و نتایج منفی کاذب در آزمایش‌های بافت‌شناسی و سایر آزمایش‌های مبتنی بر بیوپسی شود. بیوپسی از آنتروم و کورپوس معمولاً در بالین توصیه می‌گردد و دستیابی به حداقل دو نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم و کورپوس، یکی از معقول‌ترین استراتژی‌هایی است که بیشترین عملکرد تشخیصی را خواهد داشت [۱۸-۲۰].

رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی از رنگ‌آمیزی‌های حساس و اختصاصی است، معمولاً در بررسی‌های معمولی در بالین، رنگ‌های HE برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری کافی است. رنگ‌های کمکی معمولاً برای نمونه‌های بیوپسی توصیه می‌شوند که گاستریت متوسط یا شدید مزمن را نشان می‌دهند اما هلیکوباکتر پیلوری در رنگ‌آمیزی HE دیده نمی‌شود. علاوه بر این، اگر تصمیم به استفاده از رنگ‌های جانبی برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری گرفته شود، رنگ‌های ایمونوهیستوشیمی باید اولین انتخاب باشد [۲۱]. اگر رنگ ایمونوهیستوشیمی در دسترس نباشد، رنگ‌آمیزی گیمسا روش ارجح در موارد بالینی است؛ زیرا این روش ساده، حساسیت بیشتر و ارزان‌قیمت است [۲۳،۲۲]. روش Peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization (PNA-FISH)، که از آن می‌توان در آماده‌سازی بافت استفاده کرد، یک تکنیک بسیار حساس (حساسیت ۹۷ درصد) و با ویژگی (۱۰۰ درصد) به‌منظور تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری است [۲۴]. با استفاده از تکنیک PNA-FISH می‌توان شکل کوکوئیدی هلیکوباکتر پیلوری را که معمولاً با بررسی معمول بافت‌شناسی مشخص نیست شناسایی کرد. علاوه بر این، PNA-FISH روشی سریع، دقیق و مقرون‌به‌صرفه در شناسایی مقاومت هلیکوباکتر پیلوری به آنتی‌بیوتیک کلاریترومایسین در نمونه‌های بیوپسی معده می‌باشد [۲۵-۲۷]. تکنیک FISH همچنین نقش مهمی در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های محیطی دارد و مطالعات بیشتری را در مورد انتقال و مخازن زیست‌محیطی هلیکوباکتر پیلوری را می‌توان با استفاده از FISH انجام داد.

### ۳. آزمایش اوره آز سریع

آزمایش اوره آز سریع (RUT) از مفیدترین آزمایش‌های تهاجمی برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری است؛ زیرا ارزان، سریع،

راحت، ویژگی بالا و به‌طور گسترده در دسترس می‌باشد. براساس فعالیت آوره ازی هلیکوباکتر پیلوری، وجود باکتری در نمونه‌های بیوپسی، معرف اوره به آمونیاک تبدیل می‌شود و منجر به افزایش pH و تغییر رنگ خواهد شد. چندین کیت اوره آز تجاری از جمله آزمون‌های مبتنی بر ژل( CLOtest، HpFast)آزمایش‌های مبتنی بر کاغذ (PyloriTek، ProntoDry)و آزمایش‌های مبتنی بر مایع (UFT300، EndoscHp) اکنون در دسترس می‌باشند و آزمایش‌های اوره از تجاری مختلف زمان واکنش متفاوتی برای ارائه نتایج می‌دهند. آزمایش CLO معمولاً ۲۴ ساعت طول می‌کشد تا نتیجه دقیقی را ارائه دهد، در حالی که PyloriTek حدود ۱ ساعت و UFT 300 حدود ۵ دقیقه زمان می‌برد تا نتایج سریع‌تری را ارائه دهد. بررسی و خولندن آزمایش اوره آز زودتر از زمان مقرر ممکن است منجر به نتایج منفی کاذب شود [۲۸]. علاوه بر طراحی کیت‌های تجاری، تراکم باکتری‌های موجود در نمونه بیوپسی نیز در زمان واکنش اثرگذار است و دقت تشخیصی آزمایش اوره آز را بالا می‌برد.به‌طوری که حداقل ۱۰۰۰۰ ارگانیسم معمولاً برای نتیجه مثبت آزمایش اوره آز سریع لازم است [۲۹،۲۸]. به‌طور کلی، کیت‌های تجاری اوره آز سریع از ویژگی‌های بالای ۱۰۰ -۹۵ درصد و حساسیت بالای ۹۵ -۸۵ درصد برخوردار هستند. بالا بودن تعداد بیوپسی‌های آنترال معده می‌تواند حساسیت آزمایش سریع اوره آز را افزایش دهد و نمونه‌های بیوپسی دوگلنه از کورپوس و آنتروم معده از نمونه‌های بیوپسی صرفاً آنتروم ترجیح داده می‌شوند؛ زیرا بیوپسی اضافی کورپوس باعث افزایش در دقت تشخیص خواهد شد [۳۱،۳۰]. خونریزی به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش حساسیت می‌شود و ویژگی آزمایش اوره آز سریع را به یک آزمایش غیرقابل‌اعتمادتر از سایر آزمایش‌ها در این شرایط بالینی تبدیل می‌کند [۳۳،۳۲]. اگر آزمایش اوره آز تنفسی هنوز هم برای بیمارانی که خونریزی دستگاه گوارش دارند، مورد بررسی قرار گیرد، بیوپسی از هر دو ناحیه آنتروم و کورپوس برای افزایش صحت تشخیصی پیشنهاد شده است

## ۴. کشت

کشت هلیکوباکتر پیلوری از نمونه بیوپسی معده، یک روش اختصاصی اما با حساسیت کم است. به‌طور کلی، کشت تقریباً ۱۰۰ درصد ویژگی دارد اما حساسیت کشت تغییرات معنی‌داری را بین ۹۵ -۸۵ درصد نشان می‌دهد. به دلیل سخت رشد بودن هلیکوباکتر پیلوری در محیط کشت رشد و محیط انکوباسیون، کشت آن در شرایط in vitro نیازمند محیط انتقالی خاص، محیط کشت به‌منظور رشد و انکوباسیون می‌باشد. نمونه‌های بیوپسی را می‌توان در محیط‌های انتقالی مانند Portagerm pylori یا Stuart's تا ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری کرد. چندین نوع آگار را می‌توان به‌منظور کشت استفاده کرد. محیط‌های متداول شامل Pylori agar، Skirrow agar، Columbia blood agar، Brucella agar، Brain heart infusion، Trypticase soy agar یا ترکیباتی با خون گوسفند یا اسب می‌باشد. پلیت‌های کشت آگار معمولاً در یک محیط میکروآئروفیل (۸۰-۹۰ درصد حاوی N2، ۱۰-۵ درصد حاوی $CO_2$، ۱۰-۵ درصد حاوی $O_2$) در دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد به دلیل اینکه هلیکوباکتر پیلوری یک میکروآئروفیل در نظر گرفته می‌شود، برای حداقل ۷-۵ انکوبه می‌شوند [۳۳]. شرایطی از قبیل کیفیت پایین نمونه‌ها، تأخیر در انتقال، قرار گرفتن در معرض هوا یا تکنسین کم‌تجربه، بر عملکرد روش کشت تأثیر منفی دارد و دقت تشخیصی را پایین خواهد آورد [۳۴]. در مطالعه‌ای که در ۲۶ بیمارستان انجام شده است تا بتواند تأثیر زمان انتقال و همچنین درجه حرارت بر میزان رشد را تحلیل کند، نشان داده شد که میزان کشت مثبت در گروه انتقال ۴۸ ساعته به ۲۶/۳ درصد کاهش و در مقایسه با ۳۲/۸ درصد در گروه انتقال ۲۴ ساعته (P<0.001) داشت. این مطالعه همچنین نشان داد که دمای متوسط از ۷/۴ درجه سانتی‌گراد به ۲۹/۱ درجه سانتی‌گراد در طول انتقال افزایش یافت و این باعث شد که سطح کشت مثبت از ۳۶/۷ درصد به ۲۴/۱ درصد کاهش یابد [۳۵]. با توسعه اخیر در محیط‌های انتقالی، محیط به نام GESA ساخته شده است. محیط انتقالی GESA یک محیط نیمه‌جامد است که می‌تواند نمونه‌های بیوپسی معده را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا مدت ۱۰ روز ذخیره کند و یک میزان بهبودی قابل‌سنجش از هلیکوباکتر پیلوری (۹۰/۷ درصد) ارائه دهد [۳۶]. یک محیط کشت دو فازی جدید که ترکیبی از محیط کشت آبگوشت غنی‌شده انتخابی و اوره آگار بود در یک ظرف واحد ایجاد و به‌منظور کشت هلیکوباکتر پیلوری از نمونه‌های بیوپسی معده ارزیابی شد [۳۷].

فاکتورهای میزبان‌مانند، کمبود میزان باکتری، خونریزی، مشروبات الکلی و استفاده از آنتاگونیست‌های گیرنده $H_2$، PPI و آنتی‌بیوتیک‌ها، تأثیر منفی بر میزان مثبت نتایج کشت دارند. این داروها به‌جز مصرف آنتی‌بیوتیک‌هایی که باید حداقل از ۴ هفته قبل اجتناب شوند، باید ۲ هفته قبل از کشت نیز جلوگیری شوند [۳۸]. با توجه به توصیه Maastricht IV Consensus Report، اگر مقاومت اولیه به کلاریترومایسین بالاتر از ۲۰ درصد در یک منطقه جغرافیایی معین یا بعد از موفقیت نشدن در خط دوم درمان باشد، باید کشت هلیکوباکتر پیلوری و آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام شود [۴۰،۳۹]. با افزایش شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی، کشت هنوز هم یک روش قابل‌اعتماد برای مدیریت شکست درمان هلیکوباکتر پیلوری است.

### ۵. واکنش زنجیرهای پلیمراز

از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری از نمونه‌های بیوپسی معده، بزاق، مدفوع، شیره معده و نمونه‌های دیگر استفاده می‌شود. تکنیک PCR حساسیت و ویژگی بیش از ۹۵ درصد را نسبت به سایر آزمایش‌های مرسوم دارد و دارای نتایج دقیق‌تری به‌ویژه در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری بیماران دچار خونریزی گوارشی است. چندین ژن هدف از جمله ژن‌های UreA، glmM، UreC، 16S rRNA، 23S rRNA، HSP60 و VacA برای شناسایی هلیکوباکتر پیلوری استفاده شده است. استفاده از دو ژن هدف حفاظت‌شده مختلف می‌تواند ویژگی را افزایش دهد و از نتیجه مثبت کاذب به‌خصوص در نمونه‌هایی غیر از نمونه‌های بیوپسی معده جلوگیری کند [ ۴۲،۴۱،۳۹].

در مقایسه با روش آگار دایلوشن (Etest) که معمولاً به‌عنوان استاندارد طلایی آزمایش حساسیت و مقاومت آنتی‌بیوتیکی هلیکوباکتر پیلوری در نظر گرفته می‌شود، تکنیکreal-time PCR (RT PCR) دارای چندین مزیت می‌باشد؛ از این رو PCR قبل از شروع درمان با آنتی‌بیوتیک می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری را برای پزشکان فراهم کند [۴۵،۴۳].

جهش‌های ژنتیکی که باعث مقاومت به کلاریترومایسین ( 23S rRNA)، فلئوروکینولون (ژن gyrA)، تتراسایکلین (16S rRNA)، ریفابوتین (ژن rpoB) و آموکسی‌سیلین (ژن pbp-1a) می‌گردد در مطالعات قبلی و چندین کیت تجاری مانند MutaREAL H. PyloriT، ClariRes real-time PCR assay و Seeplex ClaR-H. pylori ACE توصیف شده است که برای تشخیص مقاومت به کلاریترومایسین در بالین در دسترس است [۴۶]. با این حال، مکانیسم دقیق مقاومت به مترونیدازول، کمتر مشخص شده است و ژن‌های مقاومت مانند rdxA و frxA بیشتر نقش داشته‌اند [۴۸،۴۷]. تکنیک RT-PCR معمولاً برای اندازه‌گیری کمی DNA هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های بیوپسی استفاده می‌شود اما انجام RT-PCR به دلیل گران‌قیمت بودن می‌تواند برای آزمایشگاه‌های بالینی، مشکل و تهدید باشد. پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی دوتایی (DPO) مبتنی بر Multiplex PCR برای شناسایی هلیکوباکتر پیلوری و مقاومت به کلاریترومایسین توسعه داده شده‌اند. این آزمایش را می‌توان در ترموسیکلر معمولی انجام داد که هزینه کمتری نسبت به RT-PCR دارد [۴۹]. علاوه بر این، یک مطالعه جدید با استفاده از نمونه‌های بافتی که برای ارزیابی دقت تشخیصی DPO-PCR توسط آزمایش اوره آز سریع انجام شده بود، نشان داد که DPO-PCR از حساسیت بالاتری نسبت به آزمایش اوره آز سریع و بافت‌شناسی برخوردار است و DPO-PCR می‌تواند عفونت هلیکوباکتر پیلوری را در نمونه‌های منفی با آزمایش اوره آز سریع تشخیص دهد [۵۰].

### آزمایش‌های غیرتهاجمی

اخیراً تلاش شده است که به دلایل مختلف، کمتر از روش‌های تشخیصی آندوسکوپی استفاده شود؛ زیرا روشی تهاجمی و ناراحت‌کننده است. ممکن است هزینه آندوسکوپی مانند فورسپس یک‌بار مصرف و بیهوشی زیاد باشد. مشکلات نمونه‌برداری به دلیل توزیع ناهموار هلیکوباکتر پیلوری در معده تقریباً در روش‌های مبتنی بر بیوپسی اجتناب‌ناپذیر است.

### ۱. آزمایش تنفسی اوره

آزمایش تنفس اوره (UBT) تقریباً ۳۰ سال است که استفاده می‌شود و هنوز هم دقیق‌ترین آزمایش غیرتهاجمی برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری است. اساس روش مبتنی بر فعالیت اوره آز هلیکوباکتر پیلوری است. بیمار اوره نشان‌دار شده ( C۱۳ و C۱۴) را می‌خورد و به CO2 در معده هیدرولیز می‌شود، سپس $CO_2$ نشان‌دار در خون جذب می‌گردد و هنگام تنفس $CO_2$ نشان‌دار بازدم‌شده اندازه‌گیری می‌شود. اگرچه چندین عامل از جمله بیمار، باکتری‌ها و آزمایش، نتایج UBT را تحت تأثیر قرار می‌دهد، UBT بسیار دقیق است و حساسیت آن ۹۵ درصد می‌باشد[ ۵۴]. باید مصرف PPI دو هفته قبل و مصرف آنتی‌بیوتیک چهار هفته قبل از انجام آزمایش قطع شده باشد [۵۵]. خونریزی بر دقت تشخیصی UBT و تأخیر در UBT پس از بهبودی از خونریزی برای کاهش نتایج منفی کاذب، الزامی است [۵۶]. در برخی مواقع، هرچند اندک، وجود سایر پاتوژن‌های تولیدکننده اوره آز در معده نیز باعث نتایج مثبت کاذب می‌شود. آزمایش UBT دارای مزایای بسیاری برای کودکان، به دلیل ساده بودن، غیرتهاجمی و ایمن بودن در شناسایی عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد. دقت UBT در کودکان به‌خوبی میزان استفاده شده در افراد بالغ نیست، به‌خصوص برای کودکان زیر ۶ سال دارای حساسیت و ویژگی ۷۵ درصد تا ۱۰۰ درصد می‌باشد [۵۷].

در آزمایش اوره آز تنفسی استفاده از C۱۳ نسبت به C۱۴ به دلیل خاصیت رادیو اکتیو C۱۴ ارجح است. حتی C۱۴ برای کودکان و زنان باردار بی‌خطر است؛ زیرا میزان رادیو اکتیویته C۱۴ کمتر از اشعه موجود در محیط طبیعی است. در صورت نبود تجهیزات گران‌قیمت و امکان پرداخت هزینه‌های بالای آزمایش اوره آز تنفسی نشان‌دار با C۱۳، آزمایش اوره آز تنفسی با C۱۴ در کشورهای در حال توسعه محبوبیت بیشتری دارد. دقت تشخیصی آزمایش اوره آز تنفسی C۱۳ و C۱۴ یکسان است و هر دو آزمایش را می‌توان استاندارد طلایی در بین آزمایش‌های مختلف غیرتهاجمی برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری دانست [۵۹،۵۸].

## ۲. آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی

آزمایش آنتی‌ژن مدفوع[1] یک روش غیرتهاجمی دیگر با حساسیت و ویژگی مناسب به‌ترتیب ۹۴ و ۹۷ درصد در تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد [۶۰]. این روش وجود آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری را در نمونه‌های مدفوع تشخیص می‌دهد. دو نوع SAT برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد، این روش‌ها مبتنی بر روش ایمونواسی آنزیمی (EIA) و روش ایمونوکروماتوگرافی (ICA) و با استفاده از آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال یا مونوکلونال می‌باشند [۶۱]. در حال حاضر روش‌های SAT متعددی برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری با دقت تشخیصی متنوع با استفاده از آزمایش آنتی‌ژنی متفاوت طراحی و ارائه شده است[۶۳،۶۲]. آزمون دیگری به نام Premier Platinum HpSA Plus، آزمون مونوکلونال مبتنی بر EIA است و نتایج تشخیصی قابل‌اعتمادی با حساسیت ۹۲/۲ درصد و ویژگی ۹۴/۴ درصد و صحت ۹۳/۴ درصد در تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با چهار آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی دیگر را نشان داد [۶۴]. از جمله، یک مونوکلونال مبتنی بر EIA (آزمایش آنتی‌ژن هلیکوباکتر پیلوری)، دو مونوکلونال مبتنی بر ICA ( ImmunoCard STAT! HpSA test و آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی هلیکوباکتر پیلوری) و یک آزمایش پلی‌کلونال مبتنی بر ICA (آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی هلیکوباکتر پیلوری یک مرحله‌ای) که دقت آن پایین‌تر از ۹۰ درصد بود. یک آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی مونوکلونال جدید مبتنی بر ICA، به‌عنوان Atlas H. pylori Antigen اخیراً معرفی شده است و نتایج بهتری نسبت به آزمایش‌های آنتی‌ژن مدفوعی قبلی مونوکلونال مبتنی بر ICA با حساسیت ۹۱/۷ درصد، ویژگی ۱۰۰ درصد و دقت ۹۶/۶ درصد دارد (۶۵). همانند آزمایش اوره آز تنفسی، آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی مونوکلونال مبتنی بر ICA، طبق دستورالعمل‌ها آزمایشی قابل‌اعتماد برای ارزیابی اثربخشی درمان ریشه‌کنی هلیکوباکتر پیلوری توصیه شده است و زمان آزمایش معمولاً بعد از پایان درمان باید حداقل ۴ هفته باشد [۶۷،۶۶]. آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی مونوکلونال مبتنی بر ICA، مانند RAPID Hp StAR and ImmunoCard STAT! HpSA، همچنین نتایج امیدوارکننده با حساسیت ۱۰۰ -۹۰ درصد و ویژگی ۹۴/۹ -۹۳/۶ درصد را ارائه می‌دهد. علاوه‌بر ارزیابی درمان ریشه‌کنی، آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی مونوکلونال غیرتهاجمی و آزمایش مفیدی برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری در کودکان می‌باشد [۶۸]. آزمایش آنتی‌ژنی مدفوع، ابزاری مفید برای مطالعات غربالگری اپیدمیولوژیک است. با توجه به هزینه و تجهیزات، آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی از آزمایش اوره آز تنفسی مقرون‌به‌صرفه است [۷۰]. در مقایسه با آزمایش‌های سرولوژیکی که معمولاً برای غربالگری استفاده می‌شود، به‌نظر می‌رسد آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی، نتایج قابل‌اطمینان‌تری در تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری ارائه می‌دهد [۷۱]. یک مطالعه نشان داد که آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی در بیماران مبتلا به گاستریت آتروفیک شدید از آزمایش سرولوژیکی دقیق‌تر بوده است اما تأثیر این نتیجه نیاز به ارزیابی بیشتر دارد تا نقش آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی در غربالگری بیماری‌های مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری مثل سرطان معده بیشتر بررسی شود. در حالی که مطالعه دیگر با استفاده از آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی جدید مبتنی بر EIA پلی‌کلونال (EZ-STEP H. pylori) نشان داد که وجود گاستریت آتروفیک یا متاپلازی روده‌ای به‌طور قابل‌توجهی بر نتایج آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی تأثیر نمی‌گذارند [۷۲]. دقت آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند آنتی‌بیوتیک، PPI، N-استیل سیستئین، حرکت روده و خونریزی دستگاه گوارش فوقانی قرار می‌گیرد. انتقال درست نمونه مانند دما و زمان جابه‌جایی قبل از آزمایش، در دقت تشخیصی آزمایش آنتی‌ژن مدفوعی تأثیرگذار است [۷۴،۷۳].

## ۳. آزمایش‌های بر پایه آنتی‌بادی

آزمایش‌های سرولوژیکی متعددی براساس تشخیص آنتی‌بادی IgG ضدهلیکوباکتر پیلوری به‌منظور تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در دسترس است و آزمایش EIA رایج‌ترین و دقیق‌ترین روش در بین آن‌ها می‌باشد. آزمایش‌های سرولوژی نیز به دلیل ارزان بودن و سریع بودن آن‌ها، اغلب در غربالگری برای مطالعات اپیدمیولوژیک و قابل‌قبول بودن برای بیماران مورد استفاده قرار می‌گیرند. علاوه بر این، آزمایش‌های سرولوژی برای ارزیابی عفونت هلیکوباکتر پیلوری در کودکان مفید است [۷۶،۷۵]. از آنجا که دقت آزمایش‌های سرولوژیکی به آنتی‌ژن مورداستفاده در کیت تجاری بستگی دارد و میزان شیوع گونه‌های خاص هلیکوباکتر پیلوری به‌عنوان منبع آنتی‌ژن استفاده می‌شود. آنتی‌ژن‌های مناسب، یا با استفاده از سویه‌های محلی به‌عنوان منبع آنتی‌ژن یا ترکیب آنتی‌ژن‌ها از سویه‌های گروه‌های مختلف یا مقدار cutoff آزمایش سرولوژی قبل از بررسی جمعیت باید به‌صورت محلی، تأیید شود [۷۸،۷۷]. چندین پروتئین هلیکوباکتر پیلوری مانند CagA، VacA، UreA، Omp و GroEL برای تشخیص عفونت استفاده می‌شوند. پروتئین FliD هلیکوباکتر پیلوری، عنصری اساسی در تنظیم فلاژل عملکردی است، همچنین به‌عنوان نشانگر جدیدی برای تشخیص سرولوژیک عفونت

1- stool antigen test

هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد و به‌ترتیب حساسیت و ویژگی ۹۹ و ۹۷ درصد را دارد [۷۹]. روش جدید line immunoassay به نام H. recomLine pylori IgG که با استفاده از شش عامل بیماری‌زا (CagA، VacA، GroEL، gGT، HcpC و UreA) اخیراً برای تشخیص سرولوژیک عفونت هلیکوباکتر پیلوری معرفی شده است [۸۱،۸۰]. تکنیک recomLine، برخلاف EIA و immunoblot، اجازه می‌دهد تا پاسخ آنتی‌بادی اختصاصی را در برابر آنتی‌ژن‌های مشخص هلیکوباکتر پیلوری مشخص شود و باعث افزایش قدرت شناسایی می‌گردد [۸۲]. در مقایسه با بافت‌شناسی، recomLine به‌ترتیب حساسیت و ویژگی ۹۷ درصد و ۹۶/۲ درصد را نشان می‌دهد [۸۳]. تکنیک recomLine همچنین ابزار مفیدی برای شناسایی عوامل بیماری‌زای خاص هلیکوباکتر پیلوری است. مزیت دیگر آزمایش‌های سرولوژی این است که صحت این نوع از آزمایش‌ها تحت تأثیر خونریزی از زخم گوارشی، آتروفی معده و همچنین استفاده از PPI یا آنتی‌بیوتیک‌ها که در سایر آزمایش‌های تهاجمی یا غیرتهاجمی نتایج منفی کاذب ایجاد می‌کنند قرار نمی‌گیرد. از آنجایی که آزمایش‌های سرولوژیکی بین عفونت فعال و مواجهه قبلی با هلیکوباکتر پیلوری تفاوت قائل نیستند، لازم است قبل از ریشه‌کن کردن درمان، با سایر آزمایش‌ها تأیید بیشتر صورت گیرد[۷۹].

آزمایش‌های سرولوژیکی مبتنی بر EIA مانند آزمایش آنتی‌ژن مدفوع، از دقت بیشتری نسبت به آزمایش‌های مبتنی بر ICA برخوردار هستند [۷۹]. به‌منظور دستیابی به اهداف مختلف مانند غربالگری، تشخیص اولیه یا تأیید آزمایش دیگر، باید آزمایش‌های سرولوژیکی مطابق با پارامترهای عملکردی خاص آن‌ها به‌درستی انتخاب شوند. آزمایش‌های سرولوژی همچنین نقش مهمی در مطالعات پاتوژنز و عوامل بیماری‌زا دارند؛ زیرا چندین آنتی‌ژن پروتئین توسط تکنیک‌های ایمونولوژیکی قابل شناسایی می‌باشند و ارزش تشخیصی بیشتری نیز ارائه می‌دهند. تلاش برای یافتن نشانگرهای زیستی بالقوه برای شناسایی بیمار آلوده به سویه‌های پرخطر هلیکوباکتر پیلوری با آزمایش‌های سرولوژی انجام شده است. سطح پپسینوژن I، II و نسبت پپسینوژن I/II همراه با آنتی‌بادی هلیکوباکتر پیلوری به‌طور گسترده‌ای برای پیش‌بینی گاستریت آتروفیک و خطر ابتلا به سرطان معده استفاده شده است [۸۴]. نسبت پپسینوژن I/II همچنین در کنترل سرطان معده در بیماران پس از ریشه‌کن کردن درمان می‌تواند مفید باشد. نسبت پپسینوژن I/II در کنترل سرطان معده در بیماران پس از ریشه‌کن کردن درمان نیز می‌تواند مفید باشد [۸۶،۸۵]. با این حال، نتایج بحث‌برانگیز در مورد کاربرد بالینی این نشانگرهای سرولوژی ارائه شده است.

میزان IgG هلیکوباکتر پیلوری در ادرار کودکان در مطالعات قبلی ارزیابی گردیده، با این حال، نتایج متغیر ارائه شده است. علاوه بر این، دقت تشخیصی آزمایش مبتنی بر EIA برای تشخیص IgG هلیکوباکتر پیلوری به اندازه کافی، آزمایش قابل‌اعتمادی نبود. تشخیص آنتی‌بادی در ادرار یا بزاق، از آزمایش‌های دیگر دقیق‌تر نیست و پیشنهاد نمی‌شود که از آن در مدیریت بیماران استفاده شود [۸۸،۸۷].

## تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در سایر نمونه‌ها

استفاده از PCR برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در مدفوع، روش قابل‌اعتماد و سریعی است که به‌خصوص برای کودکان به‌عنوان یک آزمایش غیرتهاجمی، ضروری به‌نظر می‌رسد. PCR مدفوع همچنین مزایایی مثل شناسایی ژنوتیپ‌های خاص و مقاومت آنتی‌بیوتیکی میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند [۳۴]. اهمیت هلیکوباکتر پیلوری در حفره دهان که یک مخزن خارج معده و منبع عفونت مجدد یا مسیر انتقال است، هنوز کاملاً مشخص نیست. بزاق و پلاک دندان، نمونه‌هایی هستند که معمولاً برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در حفره دهان استفاده می‌شوند و PCR رایج‌ترین و قابل‌اعتمادترین آزمایش مورداستفاده در مطالعات اخیر می‌باشد. آزمایش اوره آز تنفسی و کشت در مطالعات اولیه‌ای برای شناسایی هلیکوباکتر پیلوری نیز انجام شده است. تشخیص شیوع هلیکوباکتر پیلوری در حفره دهان تغییرات گسترده ای را از ۰ تا ۱۰۰ درصد نشان می‌دهد و شیوع کمتری در بزاق در مقایسه با پلاک دندان مشاهده شد [۸۷]. تغییرات گسترده‌ای در شیوع هلیکوباکتر پیلوری در حفره دهان ممکن است به دلیل روش‌های مختلف، جمعیت‌های مختلف و پرایمرهای مختلف مورداستفاده در مطالعات باشد. یک سیستم PCR جدید، با استفاده از یک مجموعه پرایمر اختصاصی هلیکوباکتر پیلوری مبتنی بر توالی‌های بسیار محافظت‌شده برای ژنوم‌های کامل ۴۸ سویه هلیکوباکتر پیلوری، اخیراً برای افزایش دقت تشخیصی PCR در حفره دهان توسعه داده شده است [۹۰،۸۹].

## تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در شرایط بالینی خاص

خونریزی دستگاه گوارش فوقانی (UGIB) دقت تشخیص بسیاری از آزمایش‌ها از جمله آزمایش‌های تهاجمی و غیرتهاجمی را در شناسایی عفونت هلیکوباکتر پیلوری کاهش می‌دهد. در مطالعات متاآنالیز قبلی، آزمایش اوره آز تنفسی، بافت‌شناسی و کشت، حساسیت کم و در مقابل، ویژگی بالایی

در بیماران مبتلا به UGIB داشتند. آزمایش اوره آز تنفسی هنوز یک آزمایش قابل‌اعتماد است، در حالی که آزمایش شناسایی آزمایش مدفوع در این شرایط بالینی دقت کمتری دارد. با اینکه آزمایش سرولوژی تحت تأثیر UGIB قرار نمی‌گیرد اما به‌عنوان اولین آزمایش تشخیصی برای شناسایی عفونت هلیکوباکتر پیلوری توصیه نمی‌شود [۱۷]. بافت‌شناسی در مقایسه با آزمایش‌های CLO و کشت کمتر تحت تأثیر خونریزی ناشی از زخم قرار می‌گیرد و می‌تواند به‌عنوان آزمایشی قابل‌اعتمادی تلقی شود [۹۱]. PCR از حساسیت قابل‌توجه بالاتری از آزمایش اوره آز تنفسی، بافت‌شناسی و کشت، به‌ترتیب با حساسیت ۹۱، ۶۶، ۴۳ و ۳۷ درصد برخوردار است و حساسیت مشابهی را در مقایسه با روش سرولوژی و آزمایش اوره آز تنفسی به‌ترتیب ۹۴ و ۹۴ درصد نشان داده است. روش PCR در تشخیص عفونت هلیکوباکترپیلوری در زخم‌های پپتیک خونریزی‌دهنده از نظر دقت تشخیصی مشابه آزمایش اوره از تنفسی است. با این حال ویژگی روش PCR (۱۰۰ درصد) بود تنها نسبت به سرولوژی (۶۵ درصد) برتر بود و با آزمایش‌های دیگر تفاوتی وجود نداشت (آزمایش اوره آز سریع ۹۵ درصد، بافت‌شناسی ۹۵ درصد، کشت ۱۰۰ درصد و آزمایش اوره از تنفسی ۸۵ درصد) بود [۹۲]. ریشه‌کن کردن هلیکوباکتر پیلوری در مدیریت خونریزی زخم مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری به‌منظور جلوگیری از خونریزی بیشتر و درمان موفقیت‌آمیز ریشه‌کنی مهم است، حتی مؤثرتر از درمان ضدترشحی طولانی‌مدت با PPI برای کاهش خونریزی مجدد می‌باشد. آزمایش هلیکوباکتر پیلوری مبتنی‌بر بیوپسی معمولاً هنگام بررسی آندوسکوپی UGIB توصیه می‌شود، حتی اگر خونریزی باعث کاهش حساسیت آزمایش‌های مبتنی بر بیوپسی شود. نتایج یک مطالعه، یک آزمایش با تأخیر، ۴ هفته پس از قسمت UGIB، میزان تشخیص بالاتری از هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به UGIB بود. از آنجا که تعیین دقیق علل خونریزی در مدیریت خونریزی زخم بسیار مهم است، تأیید نتیجه منفی با آزمایش غیرتهاجمی بعدی نیز توسط دستورالعمل‌های مربوطه توصیه شده است. مقدار پیش‌بینی منفی کم نیز یافت شده که UBT بعد از آندوسکوپی فوری انجام شده و همچنین آزمایش تأخیری برای کلیه نتایج منفی اولیه UBT اجباری است. علی‌رغم، اهمیت آزمایش هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به UGIB، نسبت بیمارانی که آزمایش مستقیم هلیکوباکتر پیلوری را دریافت کرده بودند، به میزان کم و در حدود ۶۰ -۱۲ درصد از مطالعات قبلی بیان کرده‌اند. نگرانی در مورد کاهش حساسیت مربوط به خونریزی یا استفاده PPI و افزایش خطر بروز عوارض جانبی مرتبط با بیوپسی معده یا افزایش زمان انجام عمل برای انجام بیوپسی معده، ممکن است بر تصمیم انجام آزمایش هلیکوباکتر پیلوری توسط پزشکان تأثیرگذار باشد [۹۳].

تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به گاستروکتومی جزئی، کمتر مورد توجه بوده است؛ زیرا این بیماران بخش بسیار کمی از جمعیت را نشان می‌دهند. نتایج مطالعه متاآنالیز با مقایسه سه آزمایش معمولی که در بیماران مبتلا به گاستروکتومی جزئی نشان داد که بافت‌شناسی، بهترین روش تشخیصی و به دنبال آن آزمایش اوره از سریع، در حالی که آزمایش اوره آز سریع از نظر تشخیصی دچار ضعف است [۹۴]. این مطالعات میزان ناهمگن بودن بالایی را نشان داد و میزان حساسیت و ویژگی بافت‌شناسی، آزمایش اوره سریع و آزمایش اوره آز تنفسی را به‌ترتیب ۹۳ و ۸۵، ۷۹ و ۹۴ و ۷۷ و ۸۹ درصد گزارش کرده‌اند [۹۵]. آزمایش اوره آز سریع به‌عنوان اولین انتخاب بر روی این بیماران پیشنهاد شده است و هم‌چنین نمونه‌برداری بیوپسی از فوندوس معده یا قسمت باقی‌مانده بالای معده توصیه می‌شود. آزمایش بافت‌شناسی پس از نتیجه منفی آزمایش اوره آز سریع در این بیماران توصیه می‌گردد. آزمایش SAT ممکن است آزمایش قابل‌اعتماد دیگری برای تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به دیستال گاسترکتومی (برداشتن قسمت انتهای معده) باشد. یک مطالعه کوچک با استفاده از آزمایش HpSA برای ارزیابی دقت تشخیصی SAT در ۵۹ بیمار مبتلا به دیستال گاسترکتومی برای سرطان معده، نشان داد که حساسیت، ویژگی و دقت آزمایش HpSA به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۰/۵ و ۹۶/۶ درصد دارد [۹۶]. دلیل احتمالی عملکرد ناکافی آزمایش اوره آز تنفسی در تشخیص هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به گاسترکتومی دیستال ممکن است به دلیل نبود زمان کافی ماندن اوره در جدار معده و تعامل با اوره آز تولید شده توسط هلیکوباکتر پیلوری باشد. نتایج مطالعه ناسازگاری بین آزمایش اوره آز تنفسی و آزمایش مبتنی بر بیوپسی در بیماران مبتلا به گاسترکتومی جزئی پس از درمان ریشه‌کنی هلیکوباکتر پیلوری را نشان داد. نویسندگان پیشنهاد کردند که آزمایش‌های بیوپسی بیشتر برای جلوگیری از درمان غیرضروری مفید است و به دلیل اینکه آزمایش اوره از تنفسی میزان مثبت کاذب بالا و ارزش پیش‌بینی مثبت پایین ۱/۱۹ و ۴۴/۷ درصد دارد در این بیماران پس از ریشه‌کنی عفونت پس از درمان¬های موردنیاز توصیه می‌شود [۹۶].

تعیین دقیق وضـعیت هلیکوباکتر پیلوری در بیماران پس از ریشه‌کن کردن درمانی از اهمیت بالایی برخوردار است و UBT و همچنین SAT توســط دســتورالعمل‌هایی برای ارزیابی اثربخشی درمان ریشه‌کنی توصیه می‌شوند.

## ٤. بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه، گزینه‌های فعلی و پیشرفت‌های اخیر در آزمایش‌های تشخیصی و کاربردهای مرتبط با آن در اقدامات بالینی و همچنین انتخاب آزمایش‌های تشخیصی در شرایط مختلف بالینی بررسی شد. با تحول روش‌های تشخیصی فعلی، امکان تشخیص دقیق‌تر عفونت هلیکوباکتر پیلوری فراهم شده است که به‌نوبه خود با بهبود مدیریت بیماری‌های مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری همراه است. اگرچه ممکن است یک آزمایشی به‌عنوان استاندارد طلایی وجود نداشته باشد اما انتخاب آزمایش مناسب برای تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری و سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری در مناطق آندمیک، به دسترسی، امکانات، مزایا و مضرات هر روش و همچنین شرایط بالینی مختلف هر بیمار بستگی دارد. ترکیب نتایج دو یا چند آزمایش می‌تواند یک استراتژی معقول در موارد بالینی روزمره برای دستیابی به نتیجه مطمئن باشد.

امروزه تلاش‌های زیادی برای حصول روش‌های تشخیصی مطمئن‌تر، راحت‌تر و عملی‌تر عفونت هلیکوباکتر پیلوری انجام شده است. ما معتقدیم که در آینده روش‌های فعلی، متکامل و عملکرد آن‌ها بهبود می‌یابد تا این روش‌ها در تشخیصی عفونت هلیکوباکتر پیلوری برای اهداف بالینی مختلف و در جمعیت‌های مشخص و خصوصیات ژنوتیپی معین مثمرثمر واقع شوند.

## سپاسگزاری

نویسندگان از مرکز تحقیقات بیماری‌های کبد و گوارش، دانشگاه علوم پزشکی تبریز تشکر می‌کنند.

## References

[1]. Ghotaslou R, Leylabadlo HE, Asl YM. Prevalence of antibiotic resistance in Helicobacter pylori: A recent literature review. World journal of methodology. 2015;5(3):164.
[2]. Ghotaslou R, Leylabadlo HE, Nasiri MJ, Dabiri H, Hashemi A. Risk of gastric cancer in association with Helicobacter pylori different virulence factors: A systematic review and meta-analysis. Microbial pathogenesis. 2018;118:214-9.
[3]. Leylabadlo HE, Kafil HS, Yousefi M. Gastric cancer mortality in a high-incidence area (Ardabil Province, Northwest Iran): What risk factors are causative? European Journal of Cancer Prevention. 2016;25(6):573-4.
[4]. Ghotaslou R, Leylabadlo HE, Akhi MT, Sadeghi J, Yousefi L, Somi MH. The importance of Helicobacter pylori tnpA, tnpB, and cagA genes in various gastrointestinal diseases. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2017;32(1):62-5.
[5]. Leylabadlo HE, Yekani M, Ghotaslou R. Helicobacter pylori hopQ alleles (type I and II) in gastric cancer. Biomedical reports. 2016;4(5):601-4.
[6]. Tongtawee T ,Kaewpitoon S, Kaewpitoon N, Dechsukhum C, Leeanansaksiri W, Loyd RA, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection. Asian Pac J Cancer Prev. 2016;17(4):1631-5.
[7]. Lan H-C, Chen T-S, Li AF-Y, Chang F-Y, Lin H-C. Additional corpus biopsy enhances the detection of Helicobacter pylori infection in a background of gastritis with atrophy. BMC gastroenterology. 2012;12(1):182.
[8]. Layke JC, Lopez PP. Gastric cancer: diagnosis and treatment options. American family physician. 2004;69(5):1133-40.
[9]. Leylabadlo HE, Faezi NA, Bialvaei AZ, Kafil HS. Esophageal cancer mortality in a high-incidence area (Golestan Province, north of Iran): which risk factors are causative? European Journal of Cancer Prevention. 2018;27(6):577-8.
[10]. Yakoub D, Priest O, George AR, Hanna GB. Upper Gastrointestinal Surgery: Current Trends and Recent Innovations. Key Topics in Surgical Research and Methodology: Springer; 2010. p. 793-814.
[11]. Lopes AI, Vale FF, Oleastro M. Helicobacter pylori infection-recent developments in diagnosis .World journal of gastroenterology: WJG. 2014;20(28):9299.
[12]. Gonen C, Simsek I, Sarioglu S, Akpinar H. Comparison of high resolution magnifying endoscopy and standard videoendoscopy for the diagnosis of Helicobacter pylori gastritis in routine clinical practice: a prospective study. Helicobacter. 2009;14(1):12-21.
[13]. Ji R, Li YQ, Gu XM, Yu T, Zuo XL, Zhou CJ. Confocal laser endomicroscopy for diagnosis of Helicobacter pylori infection: a prospective study. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2010 Apr;25(4):700-5.
[14]. East JE, Vleugels JL, Roelandt P, Bhandari P, Bisschops R, Dekker E, et al. Advanced endoscopic imaging: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) technology review. Endoscopy. 2016;48(11):1029-45.
[15]. Karkanis SA, Iakovidis DK, Maroulis DE, Karras DA, Tzivras M. Computer-aided tumor detection in endoscopic video using color wavelet features. IEEE transactions on information technology in biomedicine. 2003;7(3):141-52.
[16]. Emura F, Torres R. Systematic chromoendoscopy and chromocolonoscopy as a novel systematic method to examine organs with endoscopic techniques. Google Patents; 2013.
[17]. Gisbert JP, Abraira V. Accuracy of Helicobacter pylori diagnostic tests in patients with bleeding peptic ulcer: a systematic review and meta-analysis. American Journal of Gastroenterology. 2006;101(4):848-63.
[18]. Lash J, Genta R. Adherence to the Sydney System guidelines increases the detection of H elicobacter gastritis and intestinal metaplasia in 400 738 sets of gastric biopsies. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2013;38(4):424-31.
[19]. Sharaf RN, Shergill AK, Odze RD, Krinsky ML, Fukami N, Jain R, et al. Endoscopic mucosal tissue sampling. Gastrointestinal endoscopy. 2013;78(2):216-24.
[20]. Kuipers E, Peña A, Festen H, Meuwissen S ,Uyterlinde A, Roosendaal R, et al. Long-term sequelae of Helicobacter pylori gastritis. The Lancet. 1995;345(8964):1525-8.
[21]. Edress EMH. Screening of Helicobacter Pylori Infection among Food Handlers Using Immuochromatography

Antigen and Antibody in Almadinah Arab Gezira State, Sudan (2017): University of Gezira; 2017.

[22]. Rotimi O, Cairns A, Gray S, Moayyedi P, Dixon M. Histological identification of Helicobacter pylori: comparison of staining methods. Journal of clinical pathology. 2000;53(10):756-9.

[23]. Leylabadlo HE, Kafil HS, Asgharzadeh M. Peste des petits ruminants (PPR): a serious threat for wild life. Advances in Bioscience and Clinical Medicine. 2016;4(2):49-50.

[24]. Forrest GN, Roghmann M-C, Toombs LS, Johnson JK, Weekes E, Lincalis DP, et al .Peptide nucleic acid fluorescent in situ hybridization for hospital-acquired enterococcal bacteremia: delivering earlier effective antimicrobial therapy. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2008;52(10):3558-63.

[25]. McNulty CA, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter. 2011;16:10-8.

[26]. Shahsavari S, BAGHI HB, KAFIL HSA, LEYLABADLO HE. Re-emerging tularemia in some Middle East countries: what are the reasons? Iranian journal of public health. 2018;47(2):305-6.

[27]. Angelidis AS, Tirodimos I, Bobos M, Kalamaki MS, Papageorgiou DK, Arvanitidou M. Detection of Helicobacter pylori in raw bovine milk by fluorescence in situ hybridization (FISH). International journal of food microbiology. 2011;151(2):252-6.

[28]. Liao PH ,Lin YC, Chu CH, Shih SC, Liou TC. Colonization of Helicobacter pylori in the gastric cardia: A comparison between the UFT300 and CLO tests. JGH Open. 2018;2(3):93-6.

[29]. Calvet X. Diagnosis of Helicobacter pylori infection in the proton pump inhibitor era. Gastroenterology Clinics. 2015;44(3):507-18.

[30]. Alihosseini S, Ghotaslou R, Heravi FS, Ahmadian Z, Leylabadlo HE. Management of antibiotic-resistant Helicobacter pylori infection: current perspective in Iran. Journal of Chemotherapy. 2020 Jul 11;32(6):273-85.

[31]. Lerang F, Moum B, Mowinckel P, Haug J, Ragnhildstveit E, Berge T, et al. Accuracy of seven different tests for the diagnosis of Helicobacter pylori infection and the impact of H2-receptor antagonists on test results. Scandinavian journal of gastroenterology. 1998;33(4):364-9.

[32]. Schilling D, Demel A, Adamek H, Nüsse T, Weidmann E, Riemann J. A negative rapid urease test is unreliable for exclusion of Helicobacter pylori infection during acute phase of ulcer bleeding: a prospective case control study. Digestive and Liver Disease. 2003;35(4):217-21.

[33]. Lee T-H, Lin C-C, Chung C-S, Lin C-K, Liang C-C, Tsai K-C. Increasing biopsy number and sampling from gastric body improve the sensitivity of rapid urease test in patients with peptic ulcer bleeding. Digestive diseases and sciences. 2015;60(2):454-7.

[34]. Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of Helicobacter pylori: invasive and non-invasive tests. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology. 2007;21(2):299-313.

[35]. Gong Y-N, Li Y-M, Yang N-M, Li H-Z, Guo F, Lin L, et al. Centralized isolation of Helicobacter pylori from multiple centers and transport condition influences. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2015;21(3):944.

[36]. Cellini L, Di Campli E, Di Bartolomeo S, Bessa LJ, Baffoni M, Di Giulio M. New transport medium for cultural recovery of Helicobacter pylori. Journal of clinical microbiology. 2014;52(12):4325-9.

[37]. Wisessombat S, Meethai C, Hamgo S. A new biphasic test for the detection of Helicobacter pylori in gastric biopsies. Journal of microbiological methods. 2014;96:19-24.

[38]. Testerman TL, Morris J. Beyond the stomach: an updated view of Helicobacter pylori pathogenesis, diagnosis, and treatment. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2014;20(36):12781.

[39]. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C, Bazzoli F, El-Omar E, Graham D, et al. Current concepts in the management of Helicobacter pylori infection: the Maastricht III Consensus Report. Gut. 2007;56(6):772-81.

[40]. Leylabadlo HE, Sanaie S, Heravi FS, Ahmadian Z, Ghotaslou R. From role of gut microbiota to microbial-based therapies in type 2-diabetes. Infection, Genetics and Evolution. 2020:104268.

[41]. Burd EM, Hinrichs BH. Gastrointestinal Infections. Molecular Pathology in Clinical Practice: Springer; 2016. p. 707-34.

[42]. Woodford N, Ellington MJ. The emergence of antibiotic resistance by mutation. Clinical Microbiology and Infection. 2007;13(1):5-18.

[43]. Giorgio F, Ierardi E, Sorrentino C, Principi M, Barone M, Losurdo G, et al. Helicobacter pylori DNA isolation in the stool: an essential pre-requisite for bacterial noninvasive molecular analysis. Scandinavian journal of gastroenterology. 2016;51(12):1429-32.

[44]. Labarrere CA, Woods J, Hardin J, Campana G, Ortiz M, Jaeger B, et al. Early prediction of cardiac allograft vasculopathy and heart transplant failure. American Journal of Transplantation. 2011;11(3):528-35.

[45]. Liu Q, Qi D, Kang J, Jin Y, Liu W, Gao W, et al. Efficacy of real-time PCR-based detection of Helicobacter pylori infection and genotypic resistance-guided quadruple therapy as the first-line treatment for functional dyspepsia with Helicobacter pylori infection. European journal of gastroenterology & hepatology. 2015;27(3):221-5.

[46]. Smith SM, O'Morain C, McNamara D. Antimicrobial susceptibility testing for Helicobacter pylori in times of increasing antibiotic resistance. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2014;20(29):9912.

[47]. Miftahussurur M, Syam AF, Nusi IA, Makmun D, Waskito LA, Zein LH, et al. Surveillance of Helicobacter pylori antibiotic susceptibility in Indonesia: different resistance types among regions and with novel genetic mutations. PloS one. 2016;11(12):e0166199.

[48]. Cambau E, Allerheiligen V, Coulon C, Corbel C, Lascols C, Deforges L, et al. Evaluation of a new test, genotype HelicoDR, for molecular detection of antibiotic resistance in Helicobacter pylori. Journal of clinical microbiology. 2009;47(11):3600-7.

[49]. Arslan N, Yılmaz Ö, Demiray-Gürbüz E. Importance of antimicrobial susceptibility testing for the management of eradication in Helicobacter pylori infection. World journal of gastroenterology. 2017;23(16):2854.

[50]. Chung WC, Jung SH, Oh JH, Kim TH, Cheung DY, Kim BW, et al. Dual-priming oligonucleotide-based multiplex PCR using tissue samples in rapid urease test in the detection of Helicobacter pylori infection. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2014;20(21):6547.

[51]. Torres LE, Melián K, Moreno A ,Alonso J, Sabatier CA, Hernández M, et al. Prevalence of vacA, cagA and babA2 genes in Cuban Helicobacter pylori isolates. World journal of gastroenterology: WJG. 2009;15(2):204.

[52]. Salimzadeh L, Bagheri N, Zamanzad B, Azadegan-Dehkordi F, Rahimian G, Hashemzadeh-Chaleshtori M, et al. Frequency of virulence factors in Helicobacter pylori-infected patients with gastritis. Microbial pathogenesis. 2015;80:67-72.

[53]. Ferwana M, Abdulmajeed I, Alhajiahmed A, Madani W, Firwana B, Hasan R, et al. Accuracy of urea breath test in Helicobacter pylori infection: meta-analysis. World journal of gastroenterology: WJG. 2015;21(4):1305.

[54]. Hall AJ, Fothergill JL, McNamara PS, Southern KW, Winstanley C. Turnover of strains and intraclonal variation amongst Pseudomonas aeruginosa isolates from paediatric CF patients. Diagnostic microbiology and infectious disease. 2014;80(4):324-6.

[55]. Graham DY, Opekun AR, Hammoud F, Yamaoka Y, Reddy R, Osato MS, et al. Studies regarding the mechanism of false negative urea breath tests with proton pump inhibitors. The American journal of gastroenterology. 2003;98(5):1005-9.

[56]. Huang T-C, Lee C-L. Diagnosis, treatment, and outcome

in patients with bleeding peptic ulcers and Helicobacter pylori infections. BioMed research international 2014;2014.
[57]. Guarner J, Kalach N, Elitsur Y, Koletzko S. Helicobacter pylori diagnostic tests in children: review of the literature from 1999 to 2009. European journal of pediatrics. 2010;169(1):15-25.
[58]. Marinoni C, Ribaldone DG, Rosso C, Astegiano M, Caviglia GP. Diagnosis of Helicobacter pylori infection: a look into molecular aspects of urea breath test. 2019.
[59]. Sankararaman S, Moosavi L. Urea Breath Test. 2019.
[60]. Gisbert JP, De La Morena F, Abraira V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of H. pylori infection: a systematic review and meta-analysis. American Journal of Gastroenterology. 2006;101(8):1921-30.
[61]. Zhou X, Su J, Xu G, Zhang G. Accuracy of stool antigen test for the diagnosis of Helicobacter pylori infection in children: a meta-analysis. Clinics and research in hepatology and gastroenterology. 2014;38(5):629-38.
[62]. Shimoyama T. Stool antigen tests for the management of Helicobacter pylori infection. World Journal of Gastroenterology: WJG. 2013;19(45):8188.
[63]. Korkmaz H, Kesli R, Karabagli P, Terzi Y. Comparison of the diagnostic accuracy of five different stool antigen tests for the diagnosis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter. 2013;18(5):384-91.
[64]. Okuda M, Osaki T, Kikuchi S, Ueda J, Lin Y ,Yonezawa H, et al. Evaluation of a stool antigen test using a mAb for native catalase for diagnosis of Helicobacter pylori infection in children and adults. Journal of medical microbiology. 2014;63(12):1621-5.
[65]. Osman HA, Hasan H, Suppian R, Bahar N, Hussin N, Rahim AA, et al. Evaluation of the Atlas Helicobacter pylori stool antigen test for diagnosis of infection in adult patients. Asian Pac J Cancer Prev. 2014;15(13):5245-7.
[66]. Sabbagh P, Mohammadnia-Afrouzi M, Javanian M, Babazadeh A, Koppolu V, Vasigala VR, et al. Diagnostic methods for Helicobacter pylori infection: ideals, options, and limitations. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2019;38(1):55-66.
[67]. Deguchi R, Matsushima M, Suzuki T, Mine T, Fukuda R, Nishina M, et al. Comparison of a monoclonal with a polyclonal antibody-based enzyme immunoassay stool test in diagnosing Helicobacter pylori infection after eradication therapy. Journal of gastroenterology. 2009;44(7):713-6.
[68]. Gisbert J, Pajares J. 13C-urea breath test in the diagnosis of Helicobacter pylori infection–a critical review. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2004;20(10):1001-17.
[69]. Queiroz DMM, Saito M, Rocha GA, Rocha AMC, Melo FF, Checkley W, et al. Helicobacter pylori infection in infants and toddlers in South America: concordance between [13C] urea breath test and monoclonal H. pylori stool antigen test. Journal of clinical microbiology. 2013;51(11):3735-40.
[70]. Lee Y-C, Tseng P-H, Liou J-M, Chen M-J, Chen C-C, Tu C-H, et al. Performance of a one-step fecal sample-based test for diagnosis of Helicobacter pylori infection in primary care and mass screening settings. Journal of the Formosan Medical Association. 2014;113(12):899-907.
[71]. Miftahussurur M, Yamaoka Y. Diagnostic methods of Helicobacter pylori infection for epidemiological studies: critical importance of indirect test validation. BioMed research international. 2016;2016.
[72]. Choi J, Kim CH, Kim D, Chung SJ, Song JH, Kang JM, et al. Prospective evaluation of a new stool antigen test for the detection of Helicobacter pylori, in comparison with histology, rapid urease test, 13C-urea breath test, and serology. Journal of gastroenterology and hepatology. 2011;26(6):1053-9.
[73]. Inelmen EM, Gasparini G, Sergi G, Enzi G. Evaluation of Helicobacter pylori with a stool antigen assay in frail, elderly patients. Scandinavian journal of gastroenterology. 2005;40(7):794-9.
[74]. Leylabadlo HE, Ghotaslou R, Kafil HS, Feizabadi MM, Moaddab SY, Farajnia S, et al. Non-alcoholic fatty liver diseases: from role of gut microbiota to microbial-based therapies. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. 2019:1-15.
[75]. Garza-González E, Perez-Perez GI, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ. A review of Helicobacter pylori diagnosis, treatment, and methods to detect eradication. World journal of gastroenterology: WJG. 2014;20(6):1438.
[76]. Ueda J, Okuda M, Nishiyama T, Lin Y, Fukuda Y, Kikuchi S. Diagnostic accuracy of the E-plate serum antibody test kit in detecting Helicobacter pylori infection among Japanese children. Journal of epidemiology. 2014:JE20130078.
[77]. Dunn BE, Phadnis SH. Diagnosis of Helicobacter pylori Infection and Assessment of Eradication. Manual of Molecular and Clinical Laboratory Immunology. 2016:404-11.
[78]. Faezi NA, Bialvaei AZ, Leylabadlo HE, Soleimani H, Yousefi M, Kafil HS. Viral infections in patients with acute respiratory infection in Northwest of Iran. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2016;31(3):163-7.
[79]. de Brito BB, da Silva FAF, Soares AS, Pereira VA, Santos MLC, Sampaio MM, et al. Pathogenesis and clinical management of Helicobacter pylori gastric infection. World journal of gastroenterology. 2019;25(37):5578.
[80]. Ou Z, Xiong L, Li D-Y, Geng L, Li L, Chen P, et al. Evaluation of a new fluorescence quantitative PCR test for diagnosing Helicobacter pylori infection in children. BMC gastroenterology. 2013;13(1):7.
[81]. Leylabadlo HE, Zeinalzadeh E, Akbari NAR, Kafil HS. Malassezia species infection of the synovium after total knee arthroplasty surgery. GMS hygiene and infection control. 2016;11.
[82]. Formichella L, Romberg L, Bolz C, Vieth M, Geppert M, Göttner G, et al. A novel line immunoassay based on recombinant virulence factors enables highly specific and sensitive serologic diagnosis of Helicobacter pylori infection. Clin Vaccine Immunol. 2013;20(11):1703-10.
[83]. Pan KF, Formichella L, Zhang L, Zhang Y, Ma JL, Li ZX, et al. Helicobacter pylori antibody responses and evolution of precancerous gastric lesions in a Chinese population . International journal of cancer. 2014;134(9):2118-25.
[84]. Abnet C, Zheng W, Ye W, Kamangar F, Ji B, Persson C, et al. Plasma pepsinogens, antibodies against Helicobacter pylori, and risk of gastric cancer in the Shanghai Women's Health Study Cohort. British journal of cancer. 2011;104(9):1511-6.
[85]. Haneda M, Kato M, Ishigaki S, Suzuki M, Takahashi M, Nakagawa M, et al. Identification of a high risk gastric cancer group using serum pepsinogen after successful eradication of H elicobacter pylori. Journal of gastroenterology and hepatology. 2013;28(1):78-83.
[86]. Shikata K, Ninomiya T, Yonemoto K, Ikeda F, Hata J, Doi Y, et al. Optimal cutoff value of the serum pepsinogen level for prediction of gastric cancer incidence: the Hisayama Study. Scandinavian journal of gastroenterology. 2012;47(6):669-75.
[87]. Karami N, Talebkhan Y, Saberi S, Esmaeili M, Oghalaie A, Abdirad A, et al. Seroreactivity to Helicobacter pylori antigens as a risk indicator of gastric cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2013;14(3):1813-7.
[88]. Braden B. Diagnosis of Helicobacter pylori infection. Bmj. 2012;344:e828.
[89]. Ogaya Y, Nomura R, Watanabe Y, Nakano K. Detection of Helicobacter pylori DNA in inflamed dental pulp specimens from Japanese children and adolescents. Journal of medical microbiology. 2015;64(1):117-23.
[90]. Amiri N, Abiri R, Eyvazi M, Zolfaghari MR, Alvandi A. The frequency of Helicobacter pylori in dental plaque is possibly underestimated. Archives of oral biology. 2015;60(5):782-8.
[91]. Archimandritis A, Tzivras M, Sougioultzis S, Papaparaskevas I, Apostolopoulos P, Avlami A, et al. Rapid

urease test is less sensitive than histology in diagnosing Helicobacter pylori infection in patients with non-variceal upper gastrointestinal bleeding. Journal of gastroenterology and hepatology. 2000;15(4):369-73.

[92]. Lo C-C, Lai K-H, Peng N-J, Lo G-H, Tseng H-H, Lin C-K, et al. Polymerase chain reaction: a sensitive method for detecting Helicobacter pylori infection in bleeding peptic ulcers. World journal of gastroenterology: WJG. 2005;(25)11:3909.

[93]. Kim JJ, Lee JS, Olafsson S, Laine L. Low adherence to Helicobacter pylori testing in hospitalized patients with bleeding peptic ulcer disease. Helicobacter. 2014;19(2):98-104.

[94]. Tian X-Y, Zhu H, Zhao J, She Q, Zhang G-X. Diagnostic performance of urea breath test, rapid urea test, and histology for Helicobacter pylori infection in patients with partial gastrectomy: a meta-analysis. Journal of clinical gastroenterology. 2012;46(4):285-92.

[95]. Yan J, Yamaguchi T, Odaka T, Suzuki T, Ohyama N, Hara T, et al. Stool antigen test is a reliable method to detect Helicobacter pylori in the gastric remnant after distal gastrectomy for gastric cancer. Journal of clinical gastroenterology. 2010;44(1):73-4.

[96]. Wardi J, Shalev T, Shevah O, Boaz M, Avni Y, Shirin H. A rapid continuous-real-time 13C-urea breath test for the detection of Helicobacter pylori in patients after partial gastrectomy. Journal of clinical gastroenterology. 2012;46(4):293-6.