

## Revisión

# Helicobacter pylori en pacientes con enfermedad gastroduodenal en Menorca y la evaluación de un test de diagnóstico rápido.

Slah Abdalla (\*) y M<sup>a</sup> Luisa Heredia (\*\*)

## Resumen

Se recogieron biopsias gástricas o suero de 103 pacientes (51 mujeres y 52 hombres) con molestias gastrointestinales altas. La edad media fue 49 años (rango, 25 a 85 para hombres y 25 a 82 años para mujeres). De 103 pacientes a los que se practicó gastroscopia, 45,63% tenían gastritis crónica, 17,48% tenían gastritis crónica y úlcera duodenal, 10,67% tenían gastritis crónica con úlcera duodenal curada, 6,79% tenían gastritis crónica y duodenitis, y 5,82% mostraban úlcera duodenal cicatrizado, 4,85% tenían úlcera gástrica, 3,88% úlcera duodenal, 1,94% exhibía gastritis crónica con úlcera gástrica cicatrizada, 1,94% tenían úlcera gástrica con duodenitis y 0,97% tenían sólo duodenitis. La demostración de la infección por *Helicobacter pylori* se realizó por examen histológico de biopsias gástricas o serológicamente utilizando un Kit de ELISA para

(\*) Departamento de Microbiología. (\*\*) Departamento de Gastroenterología Mutualidad Mahonesa, Menorca, Baleares

detectar *H. pylori* (Biowhittaker, Walkersville, MD). La prevalencia total de *H. pylori* fue 64%. No se encontró diferencia significativa entre los pacientes mayores o menores de 45 años, sin embargo, la mayor prevalencia se halló en el grupo de 30 a 40 años (83%).

Se evaluó un método cualitativo de látex (Pyloriset Dry, Orion Diagnostico) para valorar su utilidad en la detección de anticuerpos frente *H. pylori* en el suero de pacientes con enfermedad gastroduodenal. Mostró una sensibilidad, especificidad, y valores predictivos positivo y negativo de 96'3,92'9,96'3 y 92'9% respectivamente.

Conclusiones: *H. pylori* juega un papel importante en la patología gastroduodenal en nuestros pacientes en Menorca, y puede diagnosticarse por métodos serológicos o histológicos. El test de látex Pyloriset Dry, es un método simple, barato y muy útil para laboratorios que reciben un número pequeño de muestras.

## Introducción.

*Helicobacter pylori*, que fue aislado por primera vez en 1993 (1,2), es una bacteria gram negativa, microaerófila, con forma de S y cultivo difícil. Desde su primer aislamiento, parece claro que éste organismo pueda ser uno de los patógenos más comunes para la especie humana(3). En muchos artículos se ha mostrado la asociación entre la presencia de *H. Pylori* y síntomas o patología gastrointestinal, incluyendo la gastritis crónica tipo B y como mayor factor contribuyente para el desarrollo de úlceras pépticas gastroduodenales (1,4,8). También se ha sugerido que la infección por *H. pylori* es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico (9-12) y de los linfomas gástricos asociados a tejido linfoide en la mucosa (MALT) (13). en los últimos años, se ha descrito una asociación entre la infección por *H. pylori* en la dispepsia no ulcerosa sigue siendo controvertido (16) y muchos

aspectos epidemiológicos de la infección por *H. pylori*, el reservorio natural de la bacteria, su modo de transmisión y sus mecanismos de patogenicidad son aún desconocidos (17).

La confirmación del estado patológico y el establecimiento de la posible etiología de infección por *H. pylori* se suelen establecer por procedimientos endoscópicos. Las biopsias gástricas pueden cultivarse, examinarse histológicamente o proceder a un test de la presencia de actividad ureasa *in vitro* (18,19). Por otro lado, también han sido descritos los tests de aliento empleando la ingesta de urea marcada con  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$  y detectando por simples análisis del aliento la actividad ureasa *in situ* (20, 21, 22). Recientemente, un creciente número de estudios han demostrado que la presencia de anticuerpos séricos específicos IgG de *H. pylori* se asocia estrechamente con la infección gastrointestinal por dicho organismo (23, 24, 25, 26, 27). Se han utilizado muchas técnicas para detectar anticuerpos anti *H. pylori* tales como inmunofluorescencia (28), aglutinación con látex (29), y fijación del complemento (30), sin embargo el sistema habitualmente más utilizado es el sistema ELISA. Los test serológicos son más fáciles de realizar y originan menos molestias al paciente por su simplicidad y practicabilidad.

La prevalencia de infección por *H. pylori* aumenta con la edad en todas las poblaciones estudiadas, aunque hay diferencias considerables sobre su prevalencia, sobre todo en edades tempranas de la vida, entre países desarrollados y en vías de desarrollo (31). Dentro del mundo desarrollado la infección es rara en niños (32) y se va haciendo progresivamente más frecuente en la edad adulta. Por el contrario, en los países en vías de desarrollo parece cada vez más claro que la infección es muy común en la infancia. Aproximadamente 40% y 80% de las personas de países desarrollados y en vías de desarrollo, respectivamente, están in-

fectadas en la edad adulta, siendo *H. pylori*, probablemente una de las infecciones bacterianas más frecuentes en humanos (33).

Los objetivos de este trabajo han sido estudiar la infección de *H. pylori* en Menorca, entre los pacientes enviados al endoscopista aquejados de síntomas gastrointestinales altos. La detección de la infección por *H. pylori* se hizo por estudio histológico de las biopsias gástricas o por examen serológico utilizando el Kit de ELISA ( Biowhittaker, Walkersville, Md.). Además, se evaluó un test no invasivo, rápido, de látex en seco para detección de *H. pylori* analizando su utilidad y practicabilidad en nuestro laboratorio que recibe un número reducido de muestras.

## Material y métodos

### Pacientes

Ciento tres pacientes con aproximadamente un número igual de hombres y mujeres (52 hombres y 51 mujeres), que acudieron a la consulta de Gastroenterología con síntomas dispepticos fueron incluidos en este estudio. La edad media de hombres y mujeres fue de 49 años (rango de 25-85 y 25-82 años respectivamente). Se realizaron gastroscopias a todos los pacientes, y se tomaron biopsias para estudio histológico. Se recogió la historia clínica de cada paciente incluyendo la edad, sexo, enfermedad gastroduodenal y medicación previa o actual. Se seleccionaron sólo aquellos pacientes, que no habían recibido tratamiento antibiótico ni antiulceroso. Todos los estudios histológicos fueron examinados por el mismo patólogo que desconocía los resultados del ELISA. Las muestras de sangre tomadas se procesaron para estudio serológico, para el método de ELISA o se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta realizar la determinación del test de aglutinación con látex.

### Serología

Los sueros fueron analizados con el Kit comercial de ELISA "Pylori stat" (Biowhit-

taker, Walkersville, Md.). El pylori stat es un Kit comercial basado en el método de ELISA, que utiliza una mezcla definida de proteínas H. pylori como antígeno (34). El método se realizó según las instrucciones del fabricante. Cada una de las tres incubaciones de 15 minutos se realizó a temperatura ambiente con agitación, leyéndose a 550 nm. Usando sueros estándar y controles incluidos en el Kit, se calcula y valida una curva que fue utilizada para calcular los valores del índice predictivo (IP). Valores de Ip de 0,8 a 0,99 fueron indeterminados, valores > 1 fueron positivos y los < 0.79 fueron negativos.

### Test de aglutinación con látex

Se utilizó el Kit comercial Pyloriset Dry (Orion diagnóstico, Espoo, Finlandia), un test rápido de aglutinación con látex, según las instrucciones del fabricante. Cada muestra de suero se diluyó al 1:4 y se mezcló con el reactivo de látex. Después de tres minutos, se lee una reacción de aglutinación positiva o negativa comparando la muestra con los controles positivos y negativos incluidos en cada Kit. Todas las lecturas se hicieron sin conocer previamente los resultados histológicos o de ELISA

### Análisis estadísticos

Sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos han sido calculados.

## Resultados

De los 103 pacientes endoscopiados, 45,63 % tenían gastritis crónica, 17,48% tenían gastritis crónica y úlcera duodenal, 10,67% exhibían gastritis crónica y úlcera duodenal curada, 6,79% gastritis crónica y duodenitis, 5,82% mostraba úlcera duodenal cicatrizada, 4,85% tenía úlcera gástrica, 3,85% úlcera duodenal, 1,94% gastritis crónica y úlcera gástrica curada, 1,94% úlcera gástrica con duodenitis y 0,97% tenía duodenitis.

Se encontró infección por H. Pylori en 64,5% y 65,9% por métodos histológicos y serológicos respectivamente, en los pacientes examinados. No hubo diferencia significativa en la prevalencia de H. pylori entre hombres y mujeres. La prevalencia de H. pylori con respecto a la edad se muestra en la tabla 1, sorprendentemente, el pico máximo de infección se encuentra entre 30 y 40 años. No se observó una diferencia significativa entre pacientes mayores y menores de 45 años (64,58 y 63,63% respectivamente). La tabla 2 muestra la presencia de H. Pylori mediante métodos serológicos o examen histológico. Se puede observar una gran asociación entre la presencia de H. pylori y gastritis crónica, H. pylori se detectó en todos los casos de úlcera duodenal (100%), y con menor frecuencia en úlcera gástrica (40%). El test de látex Pyloriset Dry mostró una sensibilidad, especificidad, y valores predictivos positivo y negativo de 96,3; 92,9; 96,3 y 92,9% respectivamente (Tabla 3) cuando se compara con ELISA como método standard.

## Discusión

H. pylori es una de las infecciones bacterianas más frecuentes en el ser humano. Ocurre en todo el mundo y provoca enfermedad gastroduodenal en todos los grupos de edad (33,35). H. pylori infecta a la mitad de la población mundial y al menos al 25% de la de Estados Unidos (16). La visualización histológica de la bacteria en biopsias gástricas se ha considerado un "gold standard" para el diagnóstico de la infección por H. pylori (18,36,37). En nuestro estudio, la prevalencia de la infección por H. pylori fue 64,5%. No hubo diferencia significativa entre hombres y mujeres.

La colonización bacteriana provoca una respuesta local y otra sistémica de tipo inmune. Los anticuerpos dirigidos contra los antígenos bacterianos se detectan por ELISA, en el suero de las personas infec-

tadas. En los casos no tratados, la serología permanece positiva indefinidamente, ya que el aclaramiento espontáneo de la infección es muy raro, un test serológico positivo sugiere infección activa. La serología ha resultado ser un método simple, barato y no invasivo para detectar la infección primaria (38). La serología utilizando el Kit Pylori stat, demostró ser un método válido y fiable para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* (39). Hemos encontrado que un 65,85% de nuestros pacientes tenían anticuerpos frente *H. pylori*. Se ha propuesto que la serología podría reemplazar a la endoscopia en el diagnóstico de la gastritis asociada a *H. pylori* (40). Por ello se recomienda que los pacientes seronegativos, por debajo de 40 años no necesitan ser endoscopiados (41). Estudios recientes, utilizando este criterio, indican que se podrían obviar hasta un 20% de endoscopias, mientras que sólo 2% de las úlceras no serían diagnosticadas (42). Sin embargo, mientras que un test serológico positivo testimonia la presencia de *H. pylori*, no permite diferenciar entre gastritis con o sin úlcera y por ello la endoscopia es el único método que establece tal diferencia (26).

La prevalencia de *H. pylori* en nuestra población fue de 65,9% y 64,5% por métodos serológicos e histológicos respectivamente, lo que concuerda con la mayoría de los trabajos en los que oscila de 42 a 66% (3,30,43,44,45,46). Sin embargo aunque la prevalencia total en esta Isla fue superior a la del grupo belga, fue menor que la hallada en el grupo mediterráneo, siendo de 51% y 87% respectivamente (44). En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas en la infección por *H. pylori* entre las personas menores o mayores de 45 años (68% y 70%). Esto difiere de los resultados de los pacientes belgas, con una prevalencia de 34% y 53% para grupos menores o mayores de 40 años respectivamente. Tal discrepancia se encuentra con frecuencia en los estudios epidemiológicos de *H. pylori*,

ya que la prevalencia depende ampliamente de factores geográficos, étnicos y socioeconómicos (47, 48).

La asociación entre la presencia de *H. pylori* y signos, síntomas, patología gastrointestinal y la mejoría tras tratamiento antimicrobiano específico o con sales de bismuto ha sido demostrada cada vez con mayor frecuencia (49). En estudios recientes, se ha comprobado la cicatrización de la úlcera duodenal tras la erradicación de *H. pylori* sin tratamiento antiácido y esto daría a su vez mayor evidencia de la relación causal entre *H. pylori* y la úlcera duodenal (50). De acuerdo con anteriores artículos (51,52,53) los resultados del presente estudio, muestran que existe una estrecha relación entre *H. pylori* y la gastritis crónica. También como en artículos anteriores (54,55) hemos encontrado que la infección por *H. pylori* está presente en todos los pacientes con úlcera duodenal.

El test de aglutinación de látex tiene ventajas potenciales sobre los Kits de ELISA para muchos laboratorios que desean ofrecer un servicio de detección de anticuerpos frente a *H. pylori* para un número reducido de muestras. Se pueden realizar test únicos sin la necesidad de acarrear numerosos controles y sueros de referencia. En este estudio el test de Orion de látex seco para la detección de anticuerpos totales ha sido evaluado por su utilidad en el diagnóstico de la infección por *H. pylori* utilizando el ELISA como método de referencia (56). Se ha obtenido una sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de 96,3; 92,9; 96,3 y 92,9% respectivamente. Resultados similares fueron obtenidos por otros investigadores (51) pero más altos que los hallados previamente (46), que encontraron una sensibilidad y especificidad de 68 y 76% respectivamente.

Conclusiones: *H. pylori* juega un importante papel en los pacientes con síntomas gastrointestinales altos en nuestra comunidad y no se obtuvo diferencia significativa en la adquisición de la infección entre

hombres y mujeres. El test de Orion de látex seco para determinación de anticuerpos totales, se recomienda para laboratorios que reciben pocas muestras para la

detección de anticuerpos frente *H. pylori* y que el test EIA debe ser reservado para muestras mucho más amplias o para investigación epidemiológica.

Edad en años	Serología		Histología		Total Hp+
	Hp+	Hp-	Hp+	Hp-	
25-35	5 (71%)	2 (29%)	6 (55%)	5 (45%)	11 (51%)
36-45	8 (62%)	5 (38%)	12 (71%)	5 (29%)	20 (67%)
46-55	5 (63%)	3 (37%)	6 (60%)	4 (40%)	11 (61%)
56-60	1 (100%)	0	2 (67%)	1 (33%)	3 (75%)
+60	8 (67%)	4 (33%)	13 (62%)	8 (38%)	21 (64%)
Total	27 (65,9%)	14 (34,2%)	39 (62,9%)	23 (37,1%)	66 (64%)

Tabla 1: Relación entre la infección por *H. pylori* y la edad de los pacientes.

Diagnóstico clínico	Serología		Histología		Total Hp+
	Hp+	Hp-	Hp+	Hp-	
GC	12 (67%)	6 (33%)	19 (66%)	10 (34%)	31 (66%)
GC+UD	3 (50%)	3 (50%)	10 (83%)	2 (17%)	13 (72%)
GC+UDC	1 (33%)	2 (67%)	3 (38%)	5 (62%)	4 (36%)
GC+D	2 (100%)	0	5 (100%)	0	7 (100%)
UDC	4 (67%)	2 (33%)	0	0	4 (67%)
UG	0	0	2 (40%)	3 (60%)	2 (40%)
UD	4 (100%)	0	0	0	4 (100%)
GC+UGC	1 (50%)	1 (50%)	0	0	1 (50%)
UG+D	0	0	1 (50%)	1 (50%)	1 (50%)
D	0	0	0	1 (100%)	0

GC: gastritis crónica. UD: úlcera duodenal. UDC: úlcera duodenal cicatrizada. D: duodenitis. UG: úlcera gástrica. UGC: úlcera gástrica cicatrizada.

Tabla 2: Prevalencia de la infección por *H. pylori*

Pyloriset Dry Látex	Test de referencia		Performancias			
	Positivo	Negativo	Sensibilidad %	Especificidad %	% Valor Predictivo Positivo	% Valor Predictivo Negativo
Positivo	26	1	96,3	92,9	96,3	92,9
Negativo	1	13				
Total	27	14				

Tabla 3: Resultados del test Pyloriset Dry látex en correlación con ELISA (Pylori stst Kit) como método de referencia.

### Referencias bibliográficas

- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; i: 1311-1315.
- Warren, JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; i: 1273-1378.
- Hoek FJ, Noach LA, Rauws EAJ, Tytgat GNJ. Evaluation of the performance of commercial test kits for detection of *Helicobacter pylori* Antibodies in serum. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 1525-1528.
- Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J Infect Dis* 1990; 161: 623-633.
- Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. *J Clin Pathol* 1986; 39: 353-365.
- Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis* and gastritis. *J Infect Disease* 1986; 153: 650-657.
- Ormand JE, Talley NJ, Shorter RG, Conley CR, Carpenter HA, Fich A, Wilson WR, Phillips SF. Prevalence of *Helicobacter pylori* in specific forms of gastritis. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 142-154.
- Peterson, WL. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. *N Engl J Med* 1991; 343: 1043-1048.
- Correa P. Is gastric carcinoma an infectious disease?. *N Engl J Med* 1991; 325: 1170-1171.
- Forman D. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinogenesis. *Eur. J. Gastroenterol Hepatol* 1992; Suppl. 2:531-535.
- Normura A, Stemmermann GN, Chyou P-H, et. al. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med*; 325: 1132-1136.
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, et.al *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *BMJ* 1991; 325: 1127-1131.
- Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991; 338: 1175-1176.
- Mendell MA, Goggin PM, Molineaux N et. al. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br Heart J* 1994; 71: 437-439.
- Miragliotta G, Del Prete R, Mosca A. *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Lancet (lett)*. 1994; 34(8924): 751.
- Marshall BJ. *Helicobacter pylori*: A primer for 1994. *The gastroenterologist* 1993; 1: 241-247.
- Mills SD, Kurjanczyk LA, Penner JL. Antigenicity of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharides. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3175-3180.
- Brown KE, Peura DA. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 105-115.
- Abdalla S, Marco F, Perez R-M, et. al. Rapid detection of gastric *Campylobacter pylori* colonization by a simple biochemical test. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 2604-2605.
- Lin SK, Lambert JR, Schembri M, Nicholson L, Finlay M, Wong C, Coulepis A. A comparison

- of diagnostic test to determine *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 1992; 1:203-209.
21. Bell GD, Weil J, Harrison G. 14C-urea breath analysis, a non-invasive test for *Campylobacter pylori* in the stomach. *Lancet* 1987; i: 1367-1368.
  22. Graham DY, Klein PD. *Campylobacter pyloridis* detected by the 13C-urea breath test. *Lancet* 1987; i: 1174-1177.
  23. Hirschl AM, Brandstatter G, Dragosics B, Hentschel E, Kundi M, Rotter ML, Schutze K, Taufer M. Kinetics of specific IgG antibodies for monitoring the effect of anti-*Helicobacter pylori* chemotherapy. *J Infect Disease*. 1993; 168:763-766.
  24. Kosunen TU, Seppala K, Sarna S, Sipponen P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1992; 339:893-895.
  25. Perez-Perez GL, Dworking BM, Chodos JE, Blaser MJ. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Ann Int Med* 1988;109:11-17.
  26. Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman P. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori*. *N Engl J Med* 1990; 322:359-363.
  27. Evans DJ, Evans DG, Graham DY, Klein PD. A sensitive and specific serologic test for detection of *Campylobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1989; 96:1004-1008.
  28. Faulde M, Putzker M, Mertes T, Sobel D. Evaluation of an immunofluorescence assay for specific detection of immunoglobulin G antibodies directed against *Helicobacter pylori*, and antigenic cross-reactivity between *H. pylori* and *Campylobacter jejuni*. *J Clin Microbiol* 1991; 29:323-327.
  29. Westblom TU, Madan E, Gudipati S, Midkiff, Czinn SJ. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in adult and pediatric patients by using Pyloriset, a rapid latex agglutination test. *J Clin Microbiol* 1992; 30:96-98.
  30. Von Wulffen H, Heesemann J, Bützow GH, Löning T, Laufs R. Detection of *Campylobacter pyloridis* in patients with gastritis and peptic ulcers by culture, complement fixation test, and immunoblot. *J Clin Microbiol* 1986; 24:716-720.
  31. Taylor DN, Blaser MJ. The epidemiology of *H. pylori* infection. *Epidemiol Rev* 1991; 13:42-59.
  32. Van der Meer SB, Forget PP, Loffeld RJ, Stobberingh E, Kuijten RH, Arends JW. The prevalence of *Helicobacter pylori* serum antibodies in children with recurrent abdominal pain. *Eur J Pediatr* 1992; 151:799-801.
  33. Cover TL, Blaser MJ. *H. pylori*: a bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease, and gastric cancer. *ASM News* 1995; 61:21-26.
  34. Dunn BE, Campbell GP, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Purification and characterization of *Helicobacter pylori* urease. *J Biol Chem* 1990; 265: 9464-9469.
  35. Thomas JE, Petolani S. Current opinion in Gastroenterology 1994; Suppl. 1 volume 10:6-11.
  36. Barthel JS, Everett ED. Histology diagnosis of *C. Pylori* infection: The "gold standard and the alternatives. *Rev Infect Disease* 1990; 12 Suppl. 1: S107-114.
  37. Fletcher Rh, Fletcher SW, Wagner EH. Clinical epidemiology. The essentials, 2nd ed, 1988; 42-75. Williams and Wilkins, Baltimore.
  38. Peura DA. *Helicobacter pylori*: Practical guidelines for diagnosis and treatment. *The Gastroenterologist* 1993; 1:291-295.
  39. Talley NJ, Kost L, Haddad A, Zinsmeister AR. Comparison of commercial serological test for detection of *Helicobacter pylori* antibodies. *J ClinMicrobiol* 1992; 30:3146-3150.
  40. Loffeld RJ, Stobberingh E, Flendrig JA, van Sprennel JP, Arend JW. Diagnostic value of an immunoassay to detect anti *C. Pylori* antibodies in non ulcer dyspepsia. *Lancet* 1989; 1 (8648): 1182-5.
  41. Newell DG, Rathbone BJ. The serodiagnosis of *C. Pylori* infection. *Serodiagn Immunother Inf Dis* 1989; 3;1-6.
  42. Sobala Gm, Rathbone BJ, Shallcross T, Wyah JI, Dixon MF, Heatley RV, Axon AT. Evaluation of a clinical role for serology to *H. Pylori*. In *H. Pylori, gastritis and peptic ulcer*. Malfertheiner P, Ditschuneit H (eds) 1990; Springer Verlag, Berlin: 154-158.
  43. Musgrove C, Bolton FJ, Frypczyk AM, Temperley JM, Cavius SA, Gowen W, Hutchinson DN. *Campylobacter pylori*: clinical, histological and serological studies. *J Clin Pathol* 1988; 41:1316-1321.
  44. Goossens H., Glupcznski Y, Burette A, Van den Borre C, Butzler JP. Evaluation of a commercially available second-generation immunoglobulin G Enzyme immunoassay for detection of *H. pylori* infection *J Clin Microbiol* 1992; 30:176-180.
  45. Pronovost AD, Rose SL, Pawlak JW, Robin H, Schneider R. Evaluation of a new immunodiagnostic assay for *Helicobacter pylori* antibody detection: correlation with histopathological and Microbiological results. *J Clin Microbiol* 1994; 32:46-50.

46. Schembri MA, Lin SK, Lambert JR. Comparison of commercial diagnostic test for Helicobacter pylori antibodies. *J Clin Microbiol* 1993; 31:2621-2624.
47. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Klein PD, Adam E. Epidemiology of helicobacter pylori in an asymptomatic population in the United States. *Gastroenterology* 1991; 100:1495-1501.
48. Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Graham DY. Helicobacter pylori in Hispanics: Comparison with blacks and whites of similar age socioeconomic class. *Gastroenterology* 1992; 103:813-816.
49. Befrits R, Granstrom M, Rylander M, Rubio C. Helicobacter pylori in 205 consecutive endoscopy patients. *Scand J Infect Disease* 1993; 25:185-191.
50. Hosking SW, Thomas KW, Ling SC, Chung S, Yung MY, Cheng AFB, Sung JJY, Arthur KCL. Duodenal ulcer healing by eradication of Helicobacter pylori without anti-acid treatment: randomized controlled trial. *Lancet* 1994; 343: 508-510.
51. Newell DG, Johnson BJ, Ali MH, Reed PI. An enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of Campylobacter pylori-associated gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1988; (Suppl. 142): 53-57.
52. Westblom TU, Barthel JS, Kosunen Tu, Everett ED. Serum IgG and IgA antibody responses to Campylobacter pylori in a group of healthy asymptomatic volunteers. *Scand J Infect Disease* 1989; 21:311-314.
53. Granberg C, Mansikka A, Lehtonen O-P, Kujari H, Grönfors R, Nurmi H, Rähkä I, Stahlberg M-R, Leino R. Diagnosis of helicobacter pylori infection by using Pyloriset EIA-G and EIA-A for detection of serum immunoglobulin G (IgG) and IgA antibodies. *J. Clin Microbiol* 1993; 31:1450-1453.
54. Blaser MJ. Gastric Campylobacter-like organisms, gastritis, and peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 1987; 93: 371-383.
55. Goodwin CS. duodenal ulcer, Campylobacter pylori, and the "leaking proof" concept. *Lancet* 1988; ii: 1467-1469.
56. Kock M, Mäki M, Vaajalahti P, Karvonen A, Kosunen T, Juutinen K, Häivä V. Screening of Helicobacter pylori antibodies using a latex agglutination test, abstr. 151 p. 85. Sixth International congress on rapid methods and automation in Microbiology and Immunology 1990; Helsinki-Espoo, Finland.