

Diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

Maria A. Arévalo-Rosales¹, Disney Rosales-Borjas², Librado Ortiz-Ortiz³

¹Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

²Hospital Universitario Dr. Miguel Oraá, Guanare, Edo. Portuguesa, Venezuela

³Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México y Facultad de Medicina, Extensión Portuguesa-ULA, Guanare, Edo. Portuguesa, Venezuela

Recibido Mayo 15, 2007. Aceptado Junio 30, 2007.

DIAGNOSIS OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION

Resumen

Helicobacter pylori infecta casi la mitad de la población mundial. El germen Gram negativo se asocia con un número de manifestaciones clínicas que incluye gastritis, úlcera péptica, linfoma del tejido linfoide asociado a las mucosas y adenocarcinoma del estómago. Es por tanto de interés revisar y evaluar los métodos disponibles para el diagnóstico. En este aspecto, se cuenta con un gran número de pruebas invasoras y no invasoras accesibles para este propósito. Entre las primeras, la endoscopia permite la observación de la morfología de la superficie estomacal así como la obtención de tejido para estudios histopatológicos, bioquímicos y bacteriológicos. La histología además de determinar la presencia de la bacteria permite observar los cambios morfológicos de la mucosa gástrica. La prueba rápida de la ureasa es conveniente y muy certera. Por otra parte, se dispone de varios métodos no invasores, entre ellos el bacteriológico, la prueba del aliento y los estudios inmunológicos. Se ha reportado un método muy ingenioso para el estudio bacteriológico, el cual consiste en ingerir parte de un hilo contenido en una cápsula, el cual es posteriormente recuperado y cultivado. La prueba del aliento que utiliza ¹³C y la determinación de antígeno en heces son muy confiables y con una certeza diagnóstica elevada en condiciones de pre o postratamiento. Los ensayos serológicos tienen una baja certeza diagnóstica y deben ser usadas como tamiz de infección por *H. pylori* o después de una estimación cuidadosa. En esta revisión, las diferentes pruebas son evaluadas y sus ventajas y desventajas discutidas.

PALABRAS CLAVE: *Helicobacter pylori*, endoscopia, histología, ureasa, prueba del aliento, inmunodiagnóstico.

Abstract

Helicobacter pylori infects almost half of the human population. Gastric infection by the Gram-negative bacterium is associated with a number of clinical outcomes including gastritis, peptic ulcer disease, mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma, and adenocarcinoma of the stomach. It is therefore of interest to review and evaluate the methods currently used for diagnosis. A large number of tests are available for the recognition of *H. pylori* infection. Endoscopy allows the observation of the morphology of the stomach surface as well as the obtaining of tissue that can be used for histopathological examination and the performance of urease determination and bacteriological analysis. Histology besides detection of *H. pylori* allows to assess morphological changes of the gastric mucosa. The rapid urease test is very convenient and highly accurate. On the other hand, several assays of the noninvasive type are also available for diagnosis, among them: culture, urea breath test and immunological studies. An innovative method has been described by means of a thread, part of which is ingested inside a capsule; the thread is recovered and culture. The ¹³C-urea breath test and the recently developed stool antigen test are reliable tests with a high diagnostic accuracy in pre- and post-treatment conditions. The serological tests have a lower diagnostic accuracy and should only be used for screening of *H. pylori* infection or after careful local validation. In this review, the different tests are evaluated and advantages as well as disadvantages are discussed.

KEY WORDS: *Helicobacter pylori*, endoscopy, histology, rapid urease test, breath test, immunodiagnostic

Introducción

Helicobacter pylori es una bacteria Gram negativa, de forma espiral, de 0.5-0.9 µm de ancho por 2-4 µm de largo. Es un germen microaerófilo estricto que requiere de dióxido de carbono para su crecimiento,

y que posee un mechón de flagelos envainados unipolares. Una de las características más importantes es que produce una ureasa muy poderosa, la cual es vital para su supervivencia en el estómago. El microorganismo sufre una transformación cocoide cuando se expone a

condiciones adversas, y se vuelve más frágil (1).

H. pylori vive únicamente en la mucosa gástrica, particularmente en el antro, aunque otras partes del estómago pueden ser colonizadas, especialmente en pacientes que consumen drogas antiácidas como los antagonistas H₂ o los inhibidores de la bomba de protones (PPIs). La bacteria se encuentra en el moco que cubre la mucosa, y aunque el ácido gástrico potencialmente la destruye, la ureasa que posee le proporciona protección, ya que actúa sobre la urea que pasa a través de la mucosa gástrica generando amonio, que neutraliza el ácido que rodea al microorganismo. Cuando el germen se encuentra en gran cantidad, la mucosa muestra usualmente una gastritis superficial conocida como crónica activa o gastritis de tipo B, diferente de la gastritis autoinmune de tipo A que se observa en la anemia perniciosa (2).

En el humano, la infección por *H. pylori* es la más común de las infecciones bacterianas crónicas y la principal causa de gastritis crónica, úlcera péptica, y posiblemente carcinoma gástrico y linfoma (3, 4); su prevalencia varía de 25 a 90% y aumenta con la edad (5), constituyendo la causa más frecuente de infección bacteriana crónica en humanos. Sin embargo, en muchos casos se advierte una colonización exitosa de la mucosa gástrica por el germen, que conlleva a una persistencia de toda la vida en ausencia de manifestaciones clínicas. *H. pylori* se encuentra en el 40 y el 80% de individuos en países industrializados y en vías de desarrollo, respectivamente (6, 7), lo que demanda la búsqueda de técnicas rápidas no invasoras, sensibles, económicas y rápidas de tamiz, para determinar su presencia. Actualmente se dispone de varias pruebas para establecer el diagnóstico, que están basadas esencialmente en dos tipos, las denominadas invasoras y las no invasoras.

Exámenes invasores

Endoscopia

El diagnóstico de la infección por *H. pylori* se lleva a cabo por endoscopia, un examen visual del estómago a través de un tubo flexible y delgado, donde el médico puede remover piezas pequeñas de tejido a través del tubo para estudio histopatológico, prueba rápida de la urea y cultivo.

Por este procedimiento se pueden identificar tres características, específicamente, una textura de la superficie antral anormal, una superficie de cuerpo mamilado, y erosiones antrales blanquecinas. Asimismo, es posible apreciar la inflamación del estómago o duodeno, evidencia de úlceras duodenales, e hiperplasia nodular del antro gástrico. La endoscopia es recomendable cuando se presenta disfagia, saciedad temprana, vómito extenso, anorexia, pérdida de más del 10 por ciento del peso corporal, melena, sangrado rectal, masa abdominal, úlcera péptica previa, ictericia, e historia familiar de cáncer gástrico (8). Con excepción de la ausencia de rugosidad y vasos visibles en el cuerpo gástrico, las características macroscópicas como se observan durante la gastroscopia, son de valor muy limitado en la evaluación de la presencia de gastritis o infección por este microorganismo (9). En consecuencia, no es posible diagnosticar una gastritis relacionada a *H. pylori* únicamente con base en las apariencias endoscópicas. El dictamen debe estar fundamentado en otros criterios, como la prueba rápida de la urea o el examen histológico de las biopsias, o ambas (10). Una de las principales limitaciones de la endoscopia es su costo relativamente elevado. Además, se ha observado un porcentaje considerable de pacientes *H. pylori* negativos en grupos con úlcera hemorrágica y en este conjunto el 79% fue serológicamente positivo para el mismo (11, 12).

Estudio histopatológico

La obtención de una biopsia de la mucosa gástrica proporciona información que no se puede obtener de otra manera, la indicación más común para este tipo de estudio es la necesidad de conocer si el paciente está infectado con *H. pylori* y comprobar los cambios morfológicos de la mucosa gástrica. El examen microscópico de la biopsia suministra testimonio del grado, extensión y topografía de las alteraciones relacionadas con la atrofia y la gastritis en la mucosa gástrica. La presencia de atrofia o pérdida de las glándulas mucosas, resulta en una falla de las funciones secretoras de la mucosa correspondiente y conduce a errores en la homeostasis de la fisiología gástrica normal. El grado de atrofia del cuerpo mucoso correlaciona linealmente con la producción máxima de ácido. La existencia de una atrofia avanzada del cuerpo

mucoso (moderada o severa) indica un estómago extremadamente hipoclorhídrico o aclorhídrico, en donde una úlcera péptica ordinaria es poco probable o imposible, a pesar de la factible infección con la bacteria (13).

Las lesiones inflamatorias son inicialmente agudas y más tarde crónicas. La gastritis aguda involucra al estómago total. Las biopsias muestran degeneración de la superficie epitelial que conlleva a la depleción de mucina y una hiperplasia foveolar compensatoria. En los tejidos obtenidos de adultos, se observa una infiltración de la mucosa por neutrófilos, con poca o nula presencia de células inflamatorias crónicas. Los neutrófilos alguna vez se agregan alrededor del estrecho istmo de los huecos gástricos. Las cepas de *H. pylori* que son positivas para la proteína asociada a la citotoxina (cagA) causan que las células epiteliales gástricas produzcan interleucina 8, una poderosa citocina quimioattractante de neutrófilos.

Las características de la gastritis crónica causada por el microorganismo generalmente incluye infiltrados de células plasmáticas y linfocitos T que son especialmente prominentes en la lámina propia de la mucosa, entre las puntas gástricas; hiperplasia linfoide reactiva del estómago, común en adultos y niños. Asimismo, los folículos linfoides están presentes en casi todos los casos, particularmente en niños (es necesario revisar al menos 10 secciones de la biopsia). La elevada prevalencia de hiperplasia linfoide quizá refleja que la bacteria es el principal determinante del desarrollo de tejido linfoide gástrico (tejido linfoide asociado a las mucosas o MALT). El infiltrado de neutrófilos se encuentra en la lámina propia y el epitelio. La degeneración del epitelio varía de acuerdo a la densidad y el número de microorganismos atados a las células epiteliales. La mucosa gástrica revierte a normal después del tratamiento con antibióticos (14). El germen puede visualizarse con tinciones de hematoxilina-eosina y Giemsa. En casos de gastritis crónica, el organismo puede no verse fácilmente y es necesario realizar tinciones de plata. Una histología normal de la mucosa elimina la infección por *H. pylori* como causa de la úlcera. La histología es muy sensible y específica, y una buena forma de determinar la etiología de la úlcera gástrica; también proporciona un record permanente. No obstante, la sensibilidad de esta prueba es reducida cuando el paciente se ha sometido al tratamiento con PPIs, antibióticos, y

compuestos que contienen bismuto (15).

Cultivo de la biopsia

El éxito del cultivo de la biopsia obtenida por endoscopia depende de la experiencia del bacteriólogo, el tiempo de manejo de la muestra, el medio de cultivo apropiado y el ambiente de incubación. El crecimiento e identificación de un microorganismo obtenido de una biopsia da el 100% de especificidad. *H. pylori* se cultiva mejor en un ambiente microaerófilico, es decir a bajas tensiones de oxígeno, usualmente 5% de CO₂, 80-85% N₂, y 70-100% humedad, y temperatura entre 33-40°C, idealmente 37°C. El medio utilizado, puede ser el agar Columbia con 10% de sangre de caballo o el Brucella agar base con 5% de sangre humana, durante 3 a 7 días bajo condiciones microaeróbicas. Si se desea obtener resultados cuantitativos, las muestras deben ser pesadas antes de la homogenización y después sembradas (16). El cultivo debe ser realizado después de 4 semanas de completar la terapia antimicrobiana o la de bismuto, o 5 días después de la terapia con PPIs. Los cultivos son necesarios en casos refractarios, donde se sospecha de resistencia microbiana. La ventaja del cultivo es su alta especificidad. Su principal desventaja es su baja sensibilidad, en comparación con otras pruebas diagnósticas, y el tiempo prolongado para obtener los resultados. Además tiene un costo elevado, es compleja y toma mucho tiempo para obtener el resultado.

Ensayo de la ureasa

Una muestra de la biopsia puede ser usada para llevar a cabo una prueba rápida de la ureasa, basada en la capacidad de *H. pylori* para liberar la enzima ureasa, que cataliza la conversión de urea a amonio y bicarbonato. La biopsia tomada del antro se coloca en un medio que contiene urea y un indicador de pH como el rojo de fenol. La ureasa producida por el microorganismo hidroliza la urea a amonio que eleva el pH del medio y cambia de color el espécimen. La especificidad y sensibilidad de este método son altas, comparado con los exámenes histopatológicos o el ensayo del aliento ureico. En un estudio reciente con 302 pacientes con sospecha de úlcera péptica se evaluó esta prueba con el estudio microscópico. El ensayo de la ureasa fue

positivo en 33 especímenes y 25 fueron positivos por microscopia. La determinación de la ureasa mostró elevada sensibilidad (90-95%) y 100% de especificidad, además de ser económica, rápida y conveniente de realizar. Este análisis ayuda a los pacientes en la evaluación del tratamiento efectivo (17).

En las muestras negativas a esta prueba y en donde los hallazgos clínicos sospechan de una infección por *H. pylori*, es necesario llevar a cabo el estudio histológico. Tanto la prueba de ureasa como el examen histológico tienen una especificidad y sensibilidad superior al 90%. La sensibilidad de esta prueba es reducida en aquellos casos de pacientes que han recibido PPIs, antibióticos, compuestos que contienen bismuto y sangrado activo (18).

Exámenes no invasores

Ensayo del aliento

La prueba del aliento con dosis orales de urea marcada con ^{13}C o ^{14}C nos indican, en una persona infectada, la presencia de la ureasa debido a que el microorganismo metaboliza la urea y libera CO_2 marcado, que es exhalado y puede ser cuantificado en muestras de aliento tomadas 20 a 30 min después de la ingestión de la urea radioactiva. La sensibilidad y especificidad son superiores al 90% (19). Esta prueba se usa generalmente para confirmar la erradicación de la bacteria después de la terapia. Sin embargo, tiene limitaciones ya que se pueden obtener resultados negativos falsos cuando el paciente ha sido tratado recientemente con antibióticos o con PPIs. En estos casos el examen debe realizarse 4 semanas después del tratamiento con antibióticos o una semana después de la terapia con los PPIs. Por otra parte, los bloqueadores H_2 no afectan la prueba (20).

Es la prueba no invasora más confiable en niños, aunque se observan resultados positivos falsos en niños menores de 6 años, comparado con los observados en niños mayores y adolescentes (21); asimismo, se presentan positivos falsos en pacientes con aclorhidria y otros microorganismos que producen ureasa, así como en pacientes que han sido sometidos a una gastrectomía parcial como resultado de úlcera péptica (22). La mayoría de los expertos están de acuerdo en que la prueba del

aliento es la prueba de elección para establecer la erradicación después de un curso de la terapia apropiada (23, 24).

Cultivo

Se ha descrito un método ingenioso no invasor para obtener muestras de la mucosa estomacal por medio de un hilo, parte del cual se encuentra dentro de una cápsula de gelatina, que se ingiere, y otra porción que se retiene en la boca. La microflora oral y nasofaríngea contaminante tiene que ser suprimida por un sembrado rápido en un medio de cultivo selectivo (25). Se han hecho modificaciones donde el hilo tragado y recuperado es usado para una prueba rápida de urea, utilizando una porción pequeña del hilo que arribó al estómago. El resto del mismo, es procesado para cultivo. La adhesión de la bacteria al hilo ha sido confirmada por PCR, amplificando el segmento de 314 pares de bases del gen A de la ureasa de *H. pylori* (26).

Pruebas inmunológicas

La determinación de anticuerpos es la prueba más utilizada para el escrutinio de pacientes (27), en consecuencia, es conveniente hacer una revisión breve de la respuesta inmune humoral durante la infección por *H. pylori*. La presencia de un número aumentado de linfocitos B y células plasmáticas en la mucosa gástrica evidencia una respuesta inmune humoral activa durante la infección crónica. Por medio de técnicas como la del ensayo inmunoenzimático (ELISA), se ha demostrado en un muestreo de secreciones gástricas de individuos infectados con el germen, una respuesta activa de anticuerpos en la mucosa, primordialmente del isotipo IgA. Esta respuesta es consistente con el predominio de IgA secretoria en las secreciones gástricas de individuos sanos. La IgA secretoria también se encuentra en saliva y en la leche materna (28, 29).

La mayoría de los pacientes infectados producen una respuesta inmune humoral sistémica que se puede identificar fácilmente, compuesta primariamente de IgG. En el suero, la IgA sérica puede ser detectada en la mitad (rango, 39%-82%) de ellos, y la IgM es rara vez encontrada. Estos hallazgos son consistentes con una infección crónica, usualmente adquirida durante la niñez. Ya que solo algunos pacientes han sido evaluados

durante la fase aguda de la infección, datos sobre la naturaleza de la respuesta de anticuerpos en esta fase y la seroconversión de IgM a IgG son escasos. Sin embargo, en un estudio realizado en un voluntario, se demostró la presencia de IgG entre 22 y 33 días después de la infección. En la infección adquirida de manera natural, se ha observado una respuesta inicial de IgM sérica, y el cambio de IgM a IgA también ha sido documentado. Los anticuerpos anti-*H. pylori* circulantes persisten a niveles constantes por años durante la infección. Niveles de las subclases IgG1, IgG2, e IgG4 están típicamente elevados, mientras que los de la subclase IgG3, asociadas con infecciones agudas, no son detectados (30).

Búsqueda de anticuerpo

Las pruebas serológicas constituyen los exámenes de elección para documentar inicialmente la infección por *H. pylori* o descartarla. Estas pruebas tienen una sensibilidad y especificidad superior al 85%. Sin embargo, como estas pruebas permanecen positivas hasta por 3 años después del tratamiento exitoso y porque los anticuerpos no disminuyen cuantitativamente de manera significativa por 6 a 12 meses después del tratamiento, los ensayos serológicos no son usualmente utilizados para determinar la curación.

Se dispone actualmente de pruebas serológicas para evaluar anticuerpos específicos para *H. pylori* (31-33), que pueden asistir al médico tanto en el diagnóstico como en el seguimiento de pacientes infectados. El ensayo más comúnmente usado es el ELISA, que ofrece más certidumbre que otras pruebas, como la de látex (34). Asimismo, existen métodos más elaborados, como el de inmunotransferencia o *Western blot*, que se usan para determinar marcadores específicos de virulencia (35). La sensibilidad y especificidad varían ampliamente. No obstante, su valor predictivo negativo de 100% la hace una prueba tamiz de gran utilidad (36-38).

Una de las razones por la cual la IgG permanece en circulación por largo tiempo, es su vida media de 21 días. Esto es similar a lo que sucede en el recién nacido, donde la IgG materna transferida al neonato es metabolizada en aproximadamente 6 meses (39). En este sentido, la determinación de IgA en secreciones pudiera constituir un método más útil no solo para el

diagnóstico sino para el pronóstico del padecimiento. En relación a la determinación de anticuerpos anti-*H. pylori*, es necesario recordar que las pruebas serológicas son económicas, relativamente rápidas y no se ven afectadas por ninguno de los tratamientos ya mencionados.

Búsqueda de antígeno

En relación a las pruebas inmunológicas podemos decir que una de las más recientes es la determinación de *H. pylori* en heces. Esta prueba se comporta de manera específica y determina la presencia de la bacteria, de tal forma que resulta ideal para evaluar el diagnóstico y el tratamiento del paciente, 14 días después del mismo (40, 41). Los ensayos de búsqueda de antígeno parecen tener una sensibilidad y especificidad cercana a la prueba del aliento, particularmente en el diagnóstico inicial (42). Su sensibilidad es reducida por PPIs, antibióticos y compuestos que contienen bismuto. La prueba es fácil de manejar, independiente de la edad y posiblemente representa una alternativa para la prueba del aliento. La determinación se lleva a cabo por ELISA, usando como revelador anticuerpos monoclonales anti-*H. pylori* marcados con una enzima (43). Es importante el almacenamiento de la muestra antes del procesamiento, pues uno inadecuado puede dar lugar a resultados pobres (44).

Conclusiones

Un gran número de pruebas diagnósticas se encuentran disponibles para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Estos procedimientos incluyen métodos invasores y no invasores. Los métodos basados en la endoscopia son generalmente importantes en la determinación de infección por esta bacteria, antes de la terapia de erradicación. El cultivo proporciona una elevada especificidad y permite evaluar la resistencia de la cepa a los antibióticos. La histología además de confirmar la presencia de la bacteria permite evaluar los cambios morfológicos en la mucosa gástrica. En la práctica, la prueba rápida de la urea es muy conveniente y muy exacta. La prueba del aliento con ¹³C y la recientemente desarrollada búsqueda de antígeno en heces son las pruebas no invasoras confiables con una certeza diagnóstica elevada en condiciones de pre o postratamiento.

Los ensayos serológicos tienen una seguridad diagnóstica baja y deben ser usadas para descartar la infección por *H. pylori* o después de una cuidadosa validación local (45).

Referencias

- Brooks, G.F., Butel, S.J., Morse, S.A. 1999. Microbiología Médica. 16a. Ed. Manual Moderno, México. p. 297-298.
- Greenwood, D., Snack, R.C.B. y Peutherer, J.F. 2002. Medical Microbiology. 16th Ed. New York. p. 292-295.
- Peterson, W.L. 1991. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease. N. Engl. J. Med. 324:1043-1048.
- Eurogast Study Group. 1993. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. Lancet 341:1359-1362.
- Megraud, F. 1993. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection: Gastroenterol. Clin. N. Am. 22:73-88
- Malaty, H.M., Nyren, O. 2003. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 8:8-12.
- NIH Consensus Development Conference. 1994. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. National Institutes of Health. Bethesda, MD.
- Lassen, A.T., Hallas, J., Schaffalitzki de M. O.B. 2004. *Helicobacter pylori* test and eradicate versus prompt endoscopy for management of dyspeptic patients: 6.7 year follow up of a randomized trial. Gut 53:1758-1763.
- Redeen, S., Petersson, F., Jonson, K.A., Borch, K. 2003. Relationship of gastroscopic features to histological findings in gastritis and *Helicobacter pylori* infection in a general population sample. Endoscopy 35: 946-950.
- Bah, A., Saraga, E., Armstrong, D., et al. 1995. Endoscopic features of *Helicobacter pylori*-related gastritis. Endoscopy 27:593-596.
- Thomson, A.B., Barkun, A.N., Armstrong, D., et al. 2003. The prevalence of clinically significant endoscopic findings in primary case patients with uninvestigated dyspepsia: the Canadian Adult Dyspepsia Empiric Treatment-Prompt Endoscopy (CADET-PE) study. Alimen. Pharmacol. Ther. 17:1481-1491.
- Wong, R., Ota, S., Bamba, H., et al. 2003. Accuracy of endoscopic diagnosis of *Helicobacter pylori* in patients with hemorrhagic peptic ulcers. Dig. Endos. 15:25-29.
- Sipponen, P. 2001. Update on the pathological approach to the diagnosis of gastritis, gastric atrophy, and *Helicobacter pylori* and its sequelae. J. Clin. Gastroenterol. 32: 196-201.
- Gold, B.J., Marty, A. 1997. *Helicobacter pylori*. En Pathology of Emerging Infections. C.R. Horsburgh Jr., A.M. Nelson, eds. ASM Press, Washington. 225-242.
- Ables, A.Z., Simon, I., Melton, E.R. 2007. Update on *Helicobacter pylori* treatment. Am. Fam. Physician 75:352-358.
- Ganga-Zandzou, P.S., Michaud, L., Vincent, P., et al. 1999. Natural outcome of *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic children: a two year follow-up study. Pediatrics 104:216-221.
- Berry, V., Sagar, V. 2006. Rapid urease test to diagnose *Helicobacter pylori* infection. J. Med. Educ. Res. 8:86-88.
- Yakoob, J., Jafri, W. Abid, S., et al. 2005. Role of rapid urease test and histopathology in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in a developing country. BMC Gastroenterol. 5:38.
- Hawtin, P.R. 1997. Serology and urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. En, Methods in Molecular Medicine, *Helicobacter pylori* Protocols. C.L. Clayton, H.L.T. Mobley, eds. Humana Press Inc., Totowa, N.J. 19-30.
- Epple, H.J., Kirstein, F.W., Bojarski, C., et al. 1997- ¹³C urea breath test in *Helicobacter pylori* diagnosis and eradication. Correlation to histology, origin of 'false' results, and influence of food intake. Scand. J. Gastroenterol. 32:308-314.
- Kindermann, A., Demmelmaier, H., Koletzko, S. et al. 2000- Influence of age on ¹³C-urea breath test results in children. J. Pediat. Gastroenterol. Nutr. 30:85-91.
- Schilling, D., Jakobs, R., Peitz, U., et al. 2001. Diagnostic accuracy of ¹³C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with partial gastric resection due to peptic ulcer disease. Digestion 63:8-13.
- Niv, Y., Niv, G., Koren, R. 2004. ¹³C urea breath test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in the elderly. Dig. Dis. Sci. 49:1840-1844.
- Mones, J., Gisbert, J.P., Borda, F., et al. 2005. Indications, diagnostic tests and *Helicobacter pylori* eradication therapy: Recommendations by the 2nd. Spanish Consensus Conference. Rev. esp. enferm. Dig. 97:348-374.
- Samuels, A.L., Windsor, H.M., Ho, G.Y., et al. 2000. Culture of *Helicobacter pylori* from a gastric strip may be an alternative to endoscopy biopsy. J. Clin. Microbiol. 38:2438-2439.
- Kawamata, O., Yoshida, H., Hirota, K., et al. 1996. Nested-polymerase chain reaction for the detection of *Helicobacter pylori* infection with a novel primer designed by sequence analysis of urease A gene in clinically isolated bacterial strains. Biochem. Biophys. Res. Commun. 219:266-272.
- Sutton, F.M. 1998. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Infect. Med. 15:331-336.
- Portal-Celhay, C., Pérez-Pérez, G.I., 2006. Immune responses to *Helicobacter pylori* colonization: mechanisms and clinical outcomes. Clin. Science 110:305-314,
- Kaufman, E., Lamster, I.B. 2002. The diagnostic applications of saliva- A review. Int. Amer. Assoc. Dental Res. 13:197-212.
- Tummala, S., Keates, S., Kelly, C.P. 2004. Update on the immunological basis of *Helicobacter pylori* gastritis. Curr. Opin. Gastroenterol. 20:592-597.
- Thijs, J.C., van Zwet, A.A., Thijs, W.J., et al. 1996. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: A prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. Am. J. Gastroenterol. 91:2125-2129.
- Taha, A.S., Reid, J., Boothman, P., Gemmell, C.J., Lee, F.D., Sturrock, R.D. y Russel, R.I. 1993. Serological diagnosis of *Helicobacter pylori*: evaluation of four tests in the presence and absence of non-steroidal anti-inflammatory drugs. Gut 34:461-465.
- Pascalis, R. De, Del Pezzo, M., Nardote, G., Budillon, G. y Lavitola, A. 1999. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for determining salivary immunoglobulin G response to *Helicobacter pylori*. J. Clin. Microbiol. 37:430-432.

34. Vaira, D., Holton, J., Menegatti, M., Landi, F., Ricci, C., Ali, A., Gatta, L., Farinelli, S., Acciardi, C., Massadri, B. Miglioli, M. and the Italian *Helicobacter pylori* Study Group. 1998. Blood tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 43 (Suppl. 1):s39-s46.
35. Pena, A.S., Endtz, H.Ph., Offerhaus, G.J.A., et al. 1989. Value of serology (ELISA and immunoblotting) for the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Digestion* 44:131-141.
36. Van de Wouw, B.A., de Boer, W.A., Jans, A.R., et al. 1996. Comparison of three commercial available enzyme-linked immunosorbent assays and biopsy-dependent diagnosis for detecting *Helicobacter pylori* infection. *J. Clin. Microbiol.* 34:94-97.
37. Ho, B., Marshall, B.J. 2000. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Serologic testing. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 29:853-862.
38. Koletzko, S. 2000. Noninvasive diagnostic tests for *Helicobacter pylori* in children. *Can. J. Gastroentol.* 19:433-439.
39. Janeway, C.A., Travers, P., Walport, M., Schlomchik, M.J. 2005. *Immunobiology*. 6th Edition, Garland Science, New York. 156.
40. Bonamico, M., Strappini, P.M., Bonci, E., et al. 2004. Evaluation of stool antigen test, PCR, and ORAL samples and serology for the non-invasive detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Helicobacter* 9:69-76.
41. Odaka, T., Yamaguchi, T., Koyama, H., et al. 2002. Evaluation of the *Helicobacter pylori* stool antigen test for monitoring eradication therapy. *Am. J. Gastroenterol.* 97:594-599.
42. Kato, S. Osawa, K., Okuida, M., et al. 2003. Accuracy of the stool test for the diagnosis of childhood *Helicobacter pylori* infection: a multicenter Japanese study. *Am. J. Gastroenterol.* 98:296-300.
43. Elitsur, Y. 2005. *Helicobacter pylori* diagnostic tools. Is it in the stool? *J. Pediatr.* 146:164-167.
44. Yee, Y.K., Yep, K.T., Que, T.L., et al. 2002. Efficacy of enzyme immunoassay for the detection of *Helicobacter pylori* antigens in frozen stool specimens: local validation. *Alim. Pharmacol. Therap.* 16:1739-1742.
45. Leodolter, A., Wolle, K., Malfertheiner, P. 2001. Current standards in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig. Dis.* 19:116-122.