

Diagnóstico no-invasivo de *Helicobacter pylori*: ¿serología, prueba de aliento con ^{13}C -urea o antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal?

Germán Campuzano Maya¹

Resumen: la infección por *Helicobacter pylori* se constituye como la infección crónica más frecuente en la especie humana. Esta infección se asocia con la patogénesis de enfermedades del estómago como la gastritis, la úlcera péptica duodenal, la úlcera péptica gástrica, el cáncer gástrico y los linfomas tipo MALT del estómago, y una gran variedad de enfermedades extradigestivas incluyendo enfermedades hematológicas, dermatológicas, cardiovasculares y autoinmunes. El diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* se puede establecer por métodos invasivos, dependientes de la endoscopia digestiva alta, y por métodos no-invasivos, que no requieren endoscopia, como son la serología, la prueba de aliento con urea marcada con ^{13}C y la detección de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal. En este módulo se analizará la utilización de las pruebas no-invasivas en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, de tal manera que el médico esté en condiciones de solicitar e interpretar adecuadamente las pruebas disponibles en el medio.

Palabras claves: *Helicobacter pylori*, diagnóstico, serología, prueba de aliento con ^{13}C urea, detección de antígenos en materia fecal.

Campuzano-Maya G. Diagnóstico no-invasivo de *Helicobacter pylori*: ¿serología, prueba de aliento con ^{13}C -urea o antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal?. *Medicina & Laboratorio* 2007; 13: 211-232.

Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 62. Editora Médica Colombiana S.A., 2007®.



Helicobacter pylori al colonizar el estómago de más del 50% de la población humana, con una mayor prevalencia en los países en vía de desarrollo que en los países desarrollados [1], se constituye en la infección crónica más frecuente en la especie humana [2]. Esta infección se asocia con la patogénesis de enfermedades del estómago como la gastritis, la úlcera péptica duodenal, la úlcera péptica gástrica, el cáncer gástrico y los linfomas tipo MALT del estómago [3] y una gran variedad de enfermedades extradigestivas, incluyendo enfermedades hematológicas como la anemia por deficiencia de hierro [4], la anemia perniciosa [5], la neutropenia autoinmune [6], la púrpura de Schönlein-Henoch [7] y la púrpura trombocitopénica idiopática [8], enfermedades dermatológicas como la rosácea [9] y la urticaria [10] y enfermedades cardiovasculares como la enfermedad coronaria [11, 12] y la arteriosclerosis en sus diferentes manifestaciones [13]. También se ha implicado en enfermedades tradicionalmente consideradas autoinmunes como la artritis reumatoide [14], el síndrome de Sjögren [15] y la tiroiditis autoinmune [10, 16], entre otras.

El diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* se puede establecer por métodos invasivos, que dependen de la endoscopia digestiva alta que aparte de ser invasiva, costosa, molesta y no estar disponible en todas partes [17], no está exenta de complicaciones, algunas de extrema gravedad [18-21], y por métodos no-invasivos, los cuales no requieren endosco-

¹ Médico especialista en Hematología y Patología Clínica. Profesor, *Ad Honorem*, Universidad de Antioquia. Director, Laboratorio Clínico Hematológico S.A. Medellín, Colombia. Correspondencia: Carrera 43C No. 5-33, Medellín, Colombia. e-mail: gcampuzano@hematologico.com

pia y se basan en algunas características de la bacterias, como la reacción que éstas inducen en el sistema inmunológico y se detecta en la serología [22], la capacidad para hidrolizar la urea que se determina en la prueba de aliento con urea marcada con carbono 13 (^{13}C -urea) [23] y la excreción de bacterias o antígenos de *Helicobacter pylori* en la materia fecal que se detecta mediante la prueba de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal [24]. A su vez, estos métodos no-invasivos se subdividen en dos grupos: (1) los activos, que como la prueba de aliento con ^{13}C -urea y el antígeno de *Helicobacter pylori* en materia fecal, indican que *Helicobacter pylori* está presente, y (2) los pasivos, que como la serología proveen evidencia de exposición previa a *Helicobacter pylori* y no indica que la infección esté presente o activa [25]. En la **tabla 1** se relacionan los métodos no-invasivos disponibles en el medio para la detección de la infección por *Helicobacter pylori* y en la **tabla 2** las indicaciones más importantes de las pruebas no-invasivas [26].

El método utilizado para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* depende de muchas variables, variables que cambian de una región a otra, como son: (1) la prevalencia de la infección en la población, (2) los síntomas, en particular la presencia de síntomas de alarma (anemia, pérdida de peso, anorexia, vómito, dolor abdominal, masa palpable, disfagia), (3) el índice de probabilidad de la prueba, (4) los costos de las pruebas y (5) la disponibilidad de

las pruebas en el medio [25], además del conocimiento que se tenga para manejar las pruebas, entre otras.

Tabla 1. Métodos para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

Invasivos
■ Estudio histológico
■ Prueba rápida de ureasa
■ Cultivo
■ Reacción de polimerasa en cadena
No-invasivos
■ Activos
Prueba de aliento con urea marcada
Antígeno de <i>Helicobacter pylori</i> en materia fecal
■ Pasivos
Serología

En este módulo, basado en una extensa, pero necesaria, revisión bibliográfica, se analizará la utilización de las pruebas no-invasivas en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, de tal manera que el médico esté en condiciones de solicitar e interpretar adecuadamente las pruebas que la nueva tecnología pone a su disposición y para que el laboratorio clínico pueda determinar qué pruebas ofrecer a la comunidad, acorde con sus necesidades y expectativas.

Serología

A pesar de la alta prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en la población son muy pocas las oportunidades para estudiar la fase aguda de esta infección y en consecuencia no se conoce bien la respuesta inmunológica aguda y los pocos datos disponibles proceden de autoinoculaciones [27, 28], infecciones accidentales en personas de laboratorio [29] y de la transmisión boca a boca, en maniobras de resucitación [30]. De acuerdo con los pocos casos que se han podido seguir, la respuesta inmunológica que induce la infección por *Helicobacter pylori* es similar a la observada con otras bacterias: aproximadamente a los 14 días se detectan anticuerpos tipo IgM y a los 21 días anticuerpos tipo IgG; los anticuerpos IgM desaparecen dentro de los tres primeros meses de haber sido infectado, cuando se establece la fase crónica de la infección, caracterizada por la presencia de anticuerpos IgG [3].

Cuando *Helicobacter pylori* coloniza la mucosa gástrica se presenta acumulación de células, especialmente polimorfonucleares neutrófilos, células plasmáticas y linfocitos, que responden a la infección induciendo cambios inflamatorios que indican una importante respuesta inmune del huésped contra el microorganismo infectante, los cuales conllevan a la producción de anticuerpos locales y sistémicos [3]. La respuesta local a nivel de la mucosa es predominan-

temente del tipo IgA [31] mientras que la respuesta sistémica esencialmente es del tipo IgG [32].

En el contexto del desarrollo tecnológico alrededor de *Helicobacter pylori*, la serología, la primera prueba no-invasiva que se desarrolló para el diagnóstico de *Helicobacter pylori*, está disponible para uso clínico desde 1984 [33], tan solo un año después de que la bacteria fuese cultivada a partir de muestras de mucosa gástrica tomadas de pacientes con gastritis [34].

Principios de la prueba

La prueba se basa en la identificación de anticuerpos específicos contra antígenos de *Helicobacter pylori* que aparecen como resultado de la respuesta inmuno-lógica, tanto local como sistémica, en los individuos infectados. Desde el punto de vista del laboratorio clínico es posible investigar tres tipos de anticuerpos contra *Helicobacter pylori*: IgA, IgG e IgM, con indicadores de eficiencia (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y exactitud) variables según la tecnología empleada, los materiales utilizados para el desarrollo de la prueba, la prevalencia de la infección y las cepas de *Helicobacter pylori* predominantes en la población en donde ésta se utiliza, como se analizará más adelante.

Para tratar de estandarizar la serología para el estudio de *Helicobacter pylori*, Stacey y colaboradores definieron los requisitos «óptimos» que debería cumplir una preparación antigénica con este fin: (1) tener una alta proporción de componentes microbianos con buena antigenicidad, (2) ser comunes a todas (o a la mayoría) de las cepas, (3) tener pocas (o ninguna) reacciones cruzadas con otros microorganismos, (4) ser fácil de aislar y purificar y (5) unirse bien al soporte sólido utilizado en el laboratorio clínico [35]. Con estas premisas, en el curso de las tres décadas posteriores al descubrimiento de la bacteria [34], se desarrollaron muchas pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en sangre total, suero, orina y saliva, utilizando especialmente el inmunoensayo y otras técnicas como el *immunoblot* [36-42], la inmunofluorescencia indirecta [43-45], el fluoroinmunoensayo [46], la prueba del complemento [36, 47], la hemaglutinación pasiva, la primera de las serologías para esta infección [33], y la citometría de flujo [48, 49], entre otras. Infortunadamente las premisas de Stacey y colaboradores [35] no se cumplen en la práctica y por ésto, antes de usar la serología regularmente en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori*, la prueba debe ser validada localmente [50]. En este módulo sólo será analizado el inmunoensayo por ser el más utilizado y porque, de alguna manera, las otras pruebas tienen la misma fundamentación.

Inmunoensayo

El inmunoensayo, también conocido como inmunoanálisis, EIA (por *Enzyme Immunoassay*) o elisa (por *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), para *Helicobacter pylori*, se basa en la detección de anticuerpos específicos dirigidos contra *Helicobacter pylori*, como se esquematiza en la **figura 1**. La mayoría de las pruebas serológicas para *Helicobacter pylori* están desarrolladas bajo esta tecnología que permite obtener resultados cuantitativos, son relativamente

Tabla 2. Indicaciones para las pruebas no invasivas en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* [26]

Tamización en pacientes que no necesitan estudio histológico (pacientes jóvenes con dispepsia, antes de administrar aines)
Evaluación del tratamiento de erradicación
Evaluación de pacientes con baja densidad de bacterias (tratamientos recientes, atrofia de la mucosa gástrica)
Limitaciones para hacer la endoscopia digestiva alta o los estudios histológicos (pacientes con úlceras sangrantes)
Investigación de manifestaciones extradigestivas de <i>Helicobacter pylori</i>
Estudios de epidemiología
En el futuro, previo a la vacunación

fáciles desde el punto de vista técnico y por lo tanto pueden ser realizadas en la mayoría de los laboratorios clínicos, independiente de su nivel de complejidad. Tienen en su contra que los resultados dependen de la preparación antigénica empleada en su desarrollo, antigenicidad que puede ser variable de uno a otro proveedor del laboratorio [51-54], del punto de corte utilizado para separar los individuos positivos de los individuos negativos [51] y de las diluciones utilizadas en el suero objeto de estudio [55], entre otros factores. De acuerdo con el metaanálisis de Loy y colaboradores, que incluyó 21 estudios, la serología para *Helicobacter pylori* tiene una sensibilidad de 85% y una especificidad de 79% [56].

Otras variables de la serología

Como resultado del desarrollo de la serología para *Helicobacter pylori*; además de la serología convencional, se tienen pruebas rápidas, pruebas en orina y pruebas en saliva, que serán analizadas a continuación.

Pruebas rápidas

Las pruebas rápidas, que utilizan como muestra sangre total, orina o saliva, también conocidas como pruebas de oficina o de consultorio, son cómodas si se tiene en cuenta que se pueden hacer al lado del paciente o durante la consulta médica, pero la precisión y la exactitud, como se verá más adelante, son menores que las pruebas convencionales que pretenden reemplazar, motivo por el cual no son aconsejables en la práctica clínica [56], concepto que recientemente ratificó el Consenso de Maastricht III [57].

Serología en orina

Además de los estudios serológicos convencionales que se realizan en sangre (suero) del paciente, técnicamente es posible determinar los anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en orina, con una sensibilidad que oscila de 91% [58] a 99% [59] y una especificidad de 67% [60] a 100% [59], indicadores que son inferiores a los alcanzados por otras pruebas no-invasivas como la prueba de aliento con ^{13}C -urea y los antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal, motivo por el cual no se recomiendan para uso clínico [61], concepto que también ratificó el Consenso de Maastricht III [57].

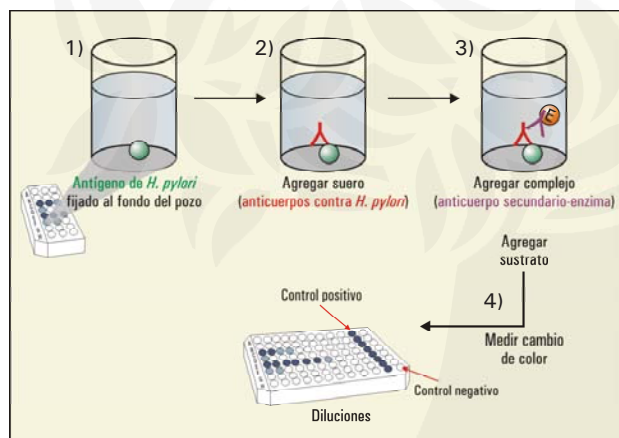


Figura 1. Prueba de inmunoensayo para la detección de anticuerpos específicos contra *Helicobacter pylori*. (1) Antígenos específicos de *Helicobacter pylori* son inmovilizados en el fondo de los pozos de un microplato. (2) Se agrega el suero del paciente (que puede o no contener anticuerpos contra *Helicobacter pylori*). (3) Se agrega un complejo anticuerpo-enzima que se unirá al anticuerpo en el suero del paciente, en caso de estar presente. (4) Se agrega el sustrato, que en presencia de la enzima, cambia de color. La cantidad de color producida es proporcional a la cantidad de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en la muestra del paciente.

Serología en saliva

También es posible determinar anticuerpos contra *Helicobacter pylori* en saliva con una sensibilidad que oscila de 66% [62] a 94% [63] y una especificidad de 58% [64] a 85% [63], indicadores que son inferiores a los alcanzados por otras pruebas no-invasivas como la prueba de aliento con ^{13}C -urea y los antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal, motivo por el

cual no se recomienda para uso clínico [61], concepto que también ratificó el Consenso de Maastricht III [57].

Utilidad clínica de la serología

Como se ha expresado, hasta 1987, cuando se describió la prueba de aliento con ^{13}C -urea [65], la única prueba no-invasiva para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* era la serología, pero con el advenimiento de ésta y otras, como los antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal, la serología ha perdido su espacio en la clínica, quedando tan sólo con unas pocas indicaciones.

La serología en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

Ante todo, es importante resaltar que la presencia de anticuerpos contra *Helicobacter pylori* no necesariamente indica que se está frente a una infección por *Helicobacter pylori*, con la serología positiva se tienen tres posibles interpretaciones: (1) que el paciente está infectado al momento de hacer la prueba (positivos verdaderos), (2) que el paciente estuvo infectado en el pasado pero en el momento de la prueba ya no está infectado (falsos positivos), y (3) que la prueba detecte anticuerpos cruzados no específicos para *Helicobacter pylori* (falsos positivos) [25]. En los dos últimos casos si la serología se utiliza como prueba única en el diagnóstico, el paciente podría recibir un diagnóstico incorrecto y en consecuencia un tratamiento innecesario [66]. Además, es importante aclarar que la serología en niños, independiente de la muestra y de la técnica utilizada, tiene una sensibilidad y una especificidad menores que las que se alcanzan en los adultos [67].

A pesar de lo anterior, el Consenso de Maastricht III ha rescatado la utilidad de la serología en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en casos especiales, en particular cuando las otras pruebas pueden dar resultados falsos negativos [57], como puede suceder en pacientes con úlcera péptica sangrante [68, 69], en donde las pruebas invasivas como la prueba de ureasa rápida (Clo-test) puede dar resultados falsos negativos [70, 71] y en condiciones especiales en donde la densidad de bacterias es muy baja para ser detectadas (menos de 10.000 UFC/mL [72]) por otros métodos, como en pacientes con gastritis atrófica [73], en pacientes con linfoma gástrico del MALT [74], en pacientes con cáncer gástrico [75, 76] y en pacientes con antecedentes recientes o que en el momento en que se requiera definir con relativa urgencia el estatus de *Helicobacter pylori* estén tomando antibióticos o inhibidores de la bomba de protones [73, 74, 77-80], debido a que la serología no se afecta en estos casos.

La serología en la evaluación del tratamiento de erradicación

Como en el caso anterior, hasta 1987, cuando se describió la prueba de aliento con ^{13}C -urea [65], la serología era la única prueba no-invasiva para evaluar la respuesta al tratamiento de erradicación. Bajo esta circunstancia, se consideraba que la erradicación había sido efectiva cuando los títulos de los anticuerpos descendían más del 50% a los 6 meses [81-84] y más del 80% al año [85-87] después de haber concluido el tratamiento de erradicación. Con la incorporación de otros métodos no-invasivos, como la prueba de aliento con ^{13}C -urea y los antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal, que permiten evaluar la erradicación más temprano, la serología como método para evaluar la eficacia del tratamiento de erradicación no tiene ninguna indicación [57].

Otras indicaciones de la serología

Así las cosas, a la serología en la práctica clínica le quedan pocas indicaciones, siendo la más importante en los casos en donde se requiere demostrar antecedentes de infección cuando ésta ha desaparecido como resultado de la evolución natural de la infección, como suele suceder en los pacientes con cáncer gástrico [75, 76], en pacientes con linfoma gástrico del MALT [74] o

con lesiones gástricas importantes en donde predomina la atrofia gástrica [73], como se analizó previamente. Otra posible utilización de la serología para *Helicobacter pylori* es en los estudios epidemiológicos, especialmente aquellos basados en material procedente de serotecas.

Futuro de la serología

Así como la serología convencional ha venido perdiendo importancia en la infección por *Helicobacter pylori*, en el futuro próximo será de gran utilidad para caracterizar las diferentes cepas, sobretodo para identificar las cepas positivas para el antígeno CagA, íntimamente relacionadas con el desarrollo del cáncer gástrico [88-92].

Prueba de aliento con ^{13}C -urea

La prueba de aliento con ^{13}C -urea fue descrita en 1987 por Graham y colaboradores [65], prueba que rápidamente fue aceptada por la comunidad médica y difundida en la investigación y la práctica clínica en todo el mundo, tanto en adultos [93-102] como en niños [103].

Principios de la prueba

En estado normal, no es posible que una bacteria sobreviva y se perpetúe en la cavidad gástrica debido al pH del estómago, por eso, *Helicobacter pylori* para poder colonizar y sobrevivir en el estómago debe modificar el pH del mismo, y para lograrlo depende de una enzima denominada ureasa.

La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea que da origen a amonio y ácido carbámico, de acuerdo con la siguiente reacción bioquímica:



Subsecuentemente, el ácido carbámico se hidroliza espontáneamente para generar otra molécula de amonio y ácido carbónico, de acuerdo con la siguiente reacción bioquímica:



Posteriormente, el amonio se equilibra con agua formando hidróxido de amonio que origina un rápido aumento del pH ácido del estómago y forma una «nube de amonio» que protege las bacterias del medio hostil. Por su parte, el ácido carbónico se absorbe, se difunde en la sangre y llega a los pulmones de donde es expulsado en forma de CO_2 , con el aire espirado o aliento.

En la naturaleza hay dos formas de carbono: uno con masa atómica de 12 (^{12}C) y otro con masa atómica de 13 (^{13}C); la proporción del primero con el segundo, en condiciones ambientales normales, es de 98,9% y 1,1% respectivamente, con una relación $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ que permanece más o menos constante en todo momento, por lo que en la práctica el aire espirado es una mezcla de $^{12}\text{CO}_2$ y $^{13}\text{CO}_2$, que como se ha expresado anteriormente estaría en una proporción de 98,9% y 1,1%.

Si se administra ^{13}C -urea (NH_2) ^{13}CO , en presencia de ureasa en el estómago, se presentarían las siguientes reacciones bioquímicas:



Subsecuentemente, el ácido carbámico se hidroliza espontáneamente para generar otra molécula de amonio y ácido carbónico, de acuerdo con la siguiente reacción bioquímica:



Como resultado final de estas reacciones se libera hidróxido de amonio y ácido carbónico con carbono marcado, el primero es utilizado para formar la «nube de amonio», como usualmente sucede, y el segundo es expulsado a través de los pulmones como $^{13}\text{CO}_2$ [23], el cual puede ser medido con la ayuda de un espectrómetro de masa especialmente diseñado para tal efecto.

El espectrómetro de masa de relación isotópica es un instrumento especializado que determina la proporción del $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ antes y después de ingerir la ^{13}C -urea. Si la cavidad gástrica está libre de *Helicobacter pylori*, no habrá ureasa y en consecuencia la ^{13}C -urea no se desdoblará y la proporción de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ después de tomar la ^{13}C -urea será muy similar a la que se obtenga antes de ingerirla; pero si en la cavidad gástrica hay ureasa es porque hay *Helicobacter pylori* en la mucosa gástrica, la urea marcada se desdoblará y en el aire espirado habrá grandes cantidades de $^{13}\text{CO}_2$ que el instrumento detecta y entrega como un resultado positivo expresado en deltas de $^{13}\text{CO}_2$ ($\delta^{13}\text{CO}_2$) [23, 104, 105] o en DOB (*delta over baseline*) como la diferencia de la relación $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ posurea sobre la relación $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ antes de la urea [106].



Figura 2. Toma de la muestra para la prueba de aliento con ^{13}C -urea.

En la **figura 2** se muestra la toma de las muestras de aliento y en la **figura 3** se esquematiza el principio básico de la prueba de aliento con ^{13}C -urea.

Interpretación de la prueba

A diferencia de los métodos diagnósticos basados en el análisis de la muestra obtenida por biopsia de mucosa gástrica, y por tanto sujetos a la distribución heterogénea característica de *Helicobacter pylori* en la cavidad gástrica, la prueba de aliento estudia la totalidad de la superficie de la mucosa gástrica, constituyéndose de este modo, hasta el momento, en la única prueba cuantitativa para *Helicobacter pylori* en donde la producción de ureasa está en relación directa con la cantidad de bacterias (carga bacteriana) en la mucosa gástrica [107-112]. Desde el punto de vista práctico, cuando se sigue estrictamente el protocolo y la prueba está bien indicada, toda prueba de aliento con ^{13}C -urea positiva es suficiente evidencia de infección activa por *Helicobacter pylori* [113, 114].

Utilidad clínica de la prueba de aliento con ^{13}C -urea

La prueba de aliento con ^{13}C -urea se considera como la prueba no-invasiva más importante en el diagnóstico y manejo de la infección por *Helicobacter pylori* [23, 57, 115-117], gracias a que independiente del protocolo utilizado y las diferentes variaciones a la prueba original [65], la prueba de aliento con ^{13}C -urea puede alcanzar una sensibilidad de 100% y una especificidad de 100% [106, 118-129]. Desde el punto de vista de su utilidad clínica, la prueba de aliento con ^{13}C -urea se puede utilizar en todas las etapas de la infección por *Helicobacter pylori*, incluida la tamización.

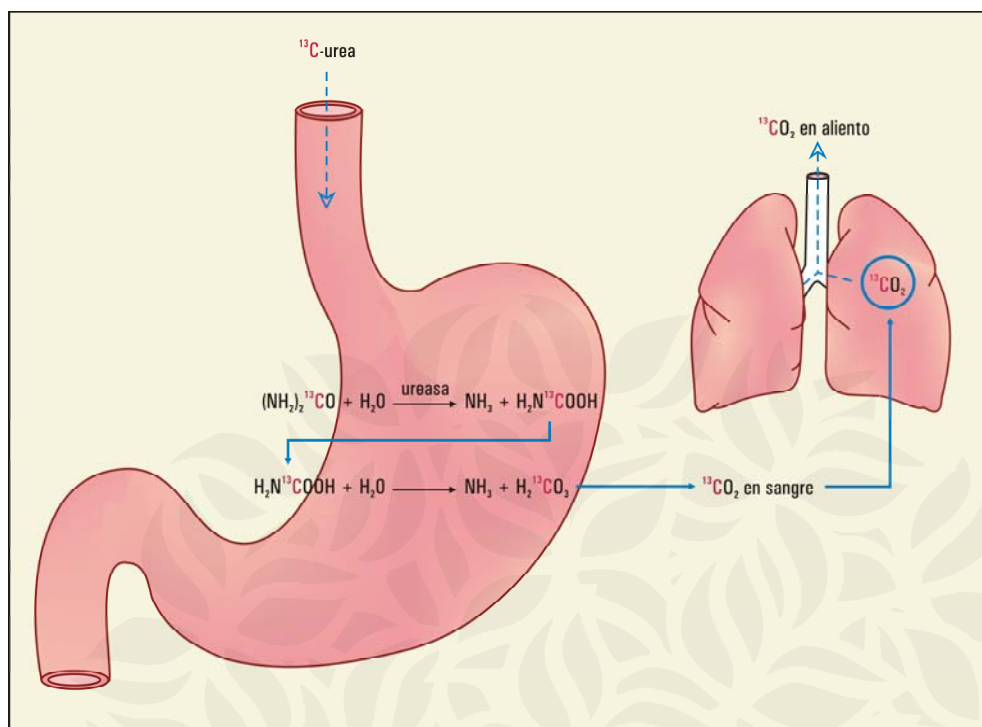


Figura 3. Representación esquemática de las bases científicas en las que se soporta la prueba de aliento con ^{13}C -urea. La prueba de aliento se basa en la capacidad de la ureasa, producida por *Helicobacter pylori*, de desdoblar la urea, produciendo iones de amonio que aumentan el pH del estómago y crean un entorno favorable para el desarrollo normal de la bacteria. Al mismo tiempo se genera CO_2 , el cual se difunde a la circulación general y luego pasa a los pulmones para ser expulsado, finalmente, en el aire espirado.

La prueba de aliento con urea marcada en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

La prueba de aliento con ^{13}C -urea es el estándar de oro de las pruebas no-invasivas en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* sobretodo en los casos de sospecha de infección por *Helicobacter pylori* y en donde la endoscopia digestiva alta no está indicada [57, 117], en particular en donde la prevalencia de *Helicobacter pylori* es alta y los esquemas «probar y tratar» han demostrado ser costo-eficientes [130, 131].

Como se ha expresado, la prueba de aliento con ^{13}C -urea tiene un excelente comportamiento analítico con sensibilidad y especificidad superiores al 95% en la mayoría de los estudios [115] y no es difícil que sean de 100% [106, 118-129], constituyéndose de esta manera en la prueba de elección para la Sociedad Americana de Gastroenterología [117] y para el Consenso de Maastricht II [132] y el Consenso de Maastricht III [57], para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* cuando no está indicada la endoscopia digestiva alta o no es necesaria la observación endoscópica del estómago [115, 117].

La prueba de aliento con urea marcada en la evaluación postratamiento

La prueba de aliento con ^{13}C -urea, 4 a 8 semanas después de haber terminado el tratamiento de erradicación, independiente del método con el cual se haya hecho el diagnóstico de infección

por *Helicobacter pylori*, es la prueba de elección en la evaluación del tratamiento [115, 117], como recientemente lo ratificó el Consenso de Maastricht III [57]. En la **figura 4** se esquematiza el manejo de la prueba de aliento con ^{13}C -urea en el seguimiento poserradicación de la infección por *Helicobacter pylori* [104].

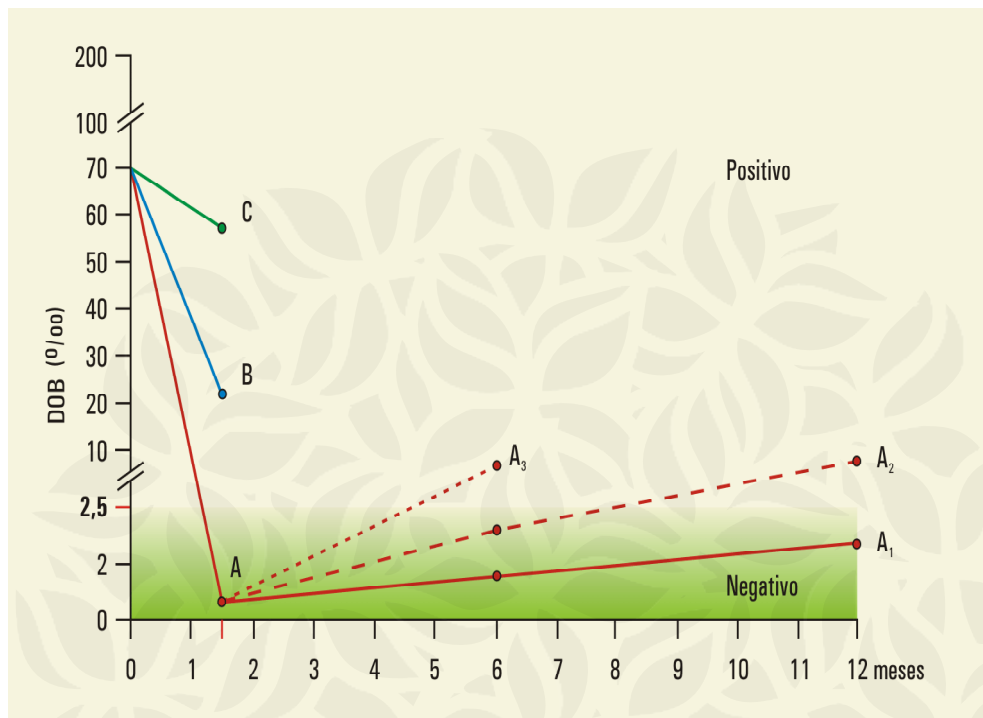


Figura 4. Seguimiento postratamiento de erradicación de la infección por *Helicobacter pylori* mediante la prueba de aliento con ^{13}C -urea. A las 6 semanas poserradicación puede darse lo siguiente: (A) que el resultado de la prueba esté por debajo del punto de corte ($2,5 \delta^{13}\text{CO}_2$); (B) que el resultado de la prueba sea mucho menor que la primera antes de comenzar el tratamiento de erradicación; y (C) que el resultado de la prueba sea similar a la primera antes del tratamiento. En el primer caso (A) se derivan tres posibilidades: (A₁) que el paciente a los 6 y 12 meses continúe con la prueba de aliento con ^{13}C -urea negativa, siendo este caso concluyente de una erradicación efectiva; (A₂) que la prueba de aliento con ^{13}C -urea a los 6 meses continúe negativa pero a los 12 meses se torne positiva, siendo este caso compatible con un aclaramiento bacteriano (reducción a niveles no detectables) severo con falla en la erradicación; y (A₃) que la prueba de aliento con ^{13}C -urea a los 6 meses se torne positiva, siendo este caso compatible con un aclaramiento bacteriano (reducción a niveles no detectables) moderado, con falla en la erradicación. En los casos (B) se observa una disminución significativa en el resultado de la prueba, situación que se interpreta como un aclaramiento, moderado en este caso, de bacterias y en (C) el resultado poserradicación tiene poca variación con respecto al resultado de la prueba antes del tratamiento de erradicación, situación que se interpreta como una falta de respuesta al tratamiento [104].

La prueba de aliento con ^{13}C -urea como prueba de tamizaje

Una de las indicaciones más importantes de la prueba de aliento con ^{13}C -urea es la posibilidad de utilizarla como prueba de tamizaje en estudios epidemiológicos, como exitosamente se ha utilizado en la mayoría de los estudios de este tipo realizados en el medio [133-136].

Limitaciones de la prueba de aliento con ¹³C-urea

Como cualquier prueba de laboratorio, la prueba de aliento con ¹³C-urea no está exenta de resultados falsos positivos y resultados falsos negativos, que el laboratorio clínico y el médico deben conocer.

Resultados falsos positivos

Como se ha expresado, la prueba, cuando se hace siguiendo las indicaciones y a pacientes en los cuales está bien indicada, tiene una especificidad (ausencia de resultados falsos negativos) de 100%. Sin embargo, se pueden presentar resultados falsos positivos en una de las siguientes circunstancias:

- Contaminación con bacterias presentes en la boca y en la orofaringe, incluida *Helicobacter pylori*, productoras de ureasa [137, 138], sobre todo cuando se utilizan protocolos que no controlan esta eventualidad, dejando residuos de ¹³C-urea en la boca.
- Sobrecrecimiento bacteriano en el estómago con bacterias diferentes a *Helicobacter pylori* o *Helicobacter heilmannii*, productoras de ureasa, situación que se puede presentar en pacientes con aclorhidria por atrofia gástrica [73] o en pacientes que reciben inhibidores de la bomba de protones por largos períodos [139, 140].
- Colonización de la mucosa gástrica por *Helicobacter heilmannii*, que representa menos del 0,5% de las infecciones por *Helicobacter* en el humano [141, 142], que para efectos prácticos no tendría importancia debido a que es un patógeno y su tratamiento es similar al de la infección por *Helicobacter pylori* [143].

Resultados falsos negativos

Como en el caso anterior, cuando la prueba se hace siguiendo las indicaciones y a pacientes en los cuales está bien indicada, tiene una sensibilidad (ausencia de resultados falsos positivos) de 100%. Sin embargo, se pueden presentar resultados falsos negativos en algunas circunstancias como:

- Cuando la cantidad de bacterias (carga de bacterias) es baja, usualmente cuando el número de bacterias está por debajo del valor mínimo de detección, 10.000 UFC/mL [72].
- Cuando hay antecedentes de antibióticos, sobre todo en los casos de altas dosis o por varios días, la prueba debe posponerse por un mes [65, 144]. Los inhibidores de la bomba de protones pueden dar en el 10% de los casos de individuos infectados por *Helicobacter pylori* resultados falsos negativos por supresión de la carga bacteriana a niveles no detectables [145] y en caso de que se esté tomando estos medicamentos, la prueba debe posponerse por una semana [146], en tanto que el efecto de la ranitidina sobre la prueba es mínimo [147]. También se pueden presentar resultados falsos negativos cuando la prueba se hace dentro de las cuatro horas siguientes a una endoscopia digestiva alta debido a que tras la oxigenación de la cavidad gástrica disminuye la actividad de la ureasa [145]. Igualmente, cuando hay aumento en la velocidad del vaciamiento gástrico, por ejemplo en pacientes con cirugía gástrica, debido a que no se alcanza a producir la reacción de la urea con la ureasa [100, 139, 145]. Finalmente, algunos autores consideran que puede haber resultados falsos negativos en pacientes a quienes se les practica la prueba sin estar en ayunas, posiblemente por interferencia de los alimentos con la urea que no entraría en contacto con la mucosa gástrica, especialmente cuando la carga de bacterias no es muy alta [99]; situación que no consideran de importancia otros autores [99, 108, 144, 148].
- Los inhibidores de la bomba de protones, como el omeprazol y el lanzoprazol, pueden dar resultados falsos negativos en la prueba de aliento entre un 17% y 61%, dependiendo

de la dosis, el tiempo y el punto de corte utilizado en la interpretación de la prueba [146, 149-155].

- Los antagonistas de los recetores H_2 , similar a los inhibidores de la bomba de protones, se han asociado con resultados falsos negativos en las pruebas de aliento con carbono 13 [78, 156].

Contraindicaciones de la prueba de aliento con ^{13}C -urea

Ninguna: a diferencia de la prueba de aliento con urea marcada con ^{14}C -urea, que utiliza un isótopo radiactivo (^{14}C), que es altamente contaminante del medio ambiente, que está contraindicada en niños y mujeres de edad gestante y que está proscrita en muchos países, la prueba de aliento con ^{13}C -urea utiliza un isótopo natural (^{13}C), que no contamina el medio ambiente, es totalmente inocua, no tiene ninguna contraindicación y puede ser repetida cuantas veces sea necesario [157].

Además de lo analizado en los subtítulos anteriores, vale la pena resaltar que la prueba puede hacerse en cualquier sitio porque permite que el paciente tome las muestras y las envíe por correo a un laboratorio de referencia para allí ser procesadas [158, 159].

Antígenos de *Helicobacter pylori* en material fecal

El método no-invasivo más reciente para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* es la prueba que identifica antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal. La prueba se basa en el hecho de que el jugo y la mucosa gástrica se eliminan constantemente por el intestino y que ahí, en caso de estar infectado por *Helicobacter pylori*, también se eliminan bacterias [24].

Principios de la prueba

La detección de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal es una prueba enzimática (usualmente un elisa) que identifica antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal a través de anticuerpos contra *Helicobacter pylori*, monoclonales o policlonales, producidos en conejo [160, 161]. En la **figura 5** se esquematiza el fundamento de la prueba.

Comercialmente se dispone de varios estuches para buscar antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal, siendo los más representativos, en el grupo de los policlonales: Premier Platinium HpSA® (Meridian Inc.,

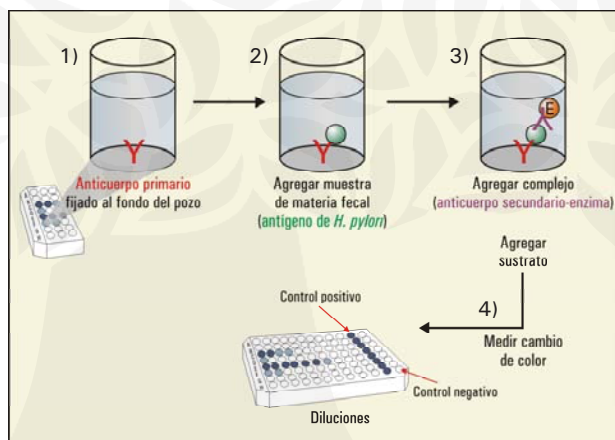


Figura 5. Prueba de elisa para la detección de antígenos específicos de *Helicobacter pylori* en materia fecal. (1) Anticuerpos específicos contra *Helicobacter pylori* son inmovilizados en el fondo de los pozos de un microplato. (2) Se agrega la muestra de materia fecal del paciente diluida (que puede o no contener antígenos de *Helicobacter pylori*). (3) Se agrega un complejo anticuerpo-enzima que se unirá al antígeno del *Helicobacter pylori* en caso de estar presente en la muestra del paciente. (4) Se agrega el sustrato, que en presencia de la enzima, cambia de color. La cantidad de color producida es proporcional a la cantidad de antígenos de *Helicobacter pylori* en la muestra del paciente.

Ohio, Estados Unidos) y en el grupo de los monoclonales: HpStAR[®], también conocido como Femtolab[®] (Dako, Glostrup, Dinamarca) y el ImmunoCard STAT HpSA[®] (Meridian Bioscience Europe, Milan, Italia), una prueba rápida para hacer al lado del paciente. En el medio hay poca experiencia con esta metodología y sólo en los últimos años se empiezan a ofrecer en algunos laboratorios clínicos.

Utilidad clínica de la prueba

Desde el punto de vista de la utilidad clínica, la búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal se utiliza en las mismas situaciones que la prueba de aliento con ¹³C-urea, esto es como prueba de diagnóstico en pacientes con sospecha de estar infectados, en la evaluación del tratamiento de erradicación y como prueba tamiz en estudios epidemiológicos.

Antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal en el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*

Recientemente, Gisbert y Pajares evaluaron, mediante una revisión sistemática, la eficiencia en el diagnóstico de *Helicobacter pylori* de la detección de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal en 89 estudios con 10.858 pacientes y encontraron una sensibilidad de 91%, una especificidad del 93%, un valor predictivo positivo de 92% y un valor predictivo negativo de 87% [24], indicadores que si bien son buenos, están por debajo de los encontrados por estos mismos autores para la prueba de aliento con ¹³C-urea en un artículo de revisión [115]. Consecuente con lo anterior, la búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori*, de acuerdo con el Consenso de Maastricht III, es una buena opción cuando no está disponible la prueba de aliento con ¹³C-urea en el medio [57].

Antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal en la evaluación postratamiento

Con relación a la utilidad clínica de la búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal para evaluar el tratamiento de erradicación, 4 a 8 semanas o más después de haber concluido el tratamiento, la revisión sistemática de Gisbert y Pajares, tras analizar 39 estudios con 3.147 pacientes, encontraron que la prueba tiene una sensibilidad de 86%, una especificidad de 92%, un valor predictivo positivo de 76% y un valor predictivo negativo de 93% [24], que similar al caso anterior, los indicadores que si bien son buenos, están por debajo de los encontrados para la prueba de aliento con ¹³C-urea [115]. Consecuente con lo anterior, la búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal para la evaluación del tratamiento de erradicación, de acuerdo con el Consenso de Maastricht III, es una buena opción cuando no está disponible la prueba de aliento con ¹³C-urea en el medio [57].

Limitaciones de los antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal

La búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal, como cualquier otra prueba de laboratorio, no está exenta de resultados falsos positivos y resultados falsos negativos, que el laboratorio clínico y el médico deben conocer.

Resultados falsos positivos

Diferente a la prueba de aliento con ¹³C-urea en donde los resultados falsos positivos son la excepción, en la búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal los resultados falsos positivos se pueden presentar por encima del 10% [160, 162-167]. Las causas que con mayor frecuencia se asocian con resultados falsos positivos son las siguientes:

- Un punto de corte de la prueba por debajo del que realmente corresponde a la población y edad del paciente [168, 169], de ahí la necesidad de validar localmente la prueba [24].

- Reacciones cruzadas con otras bacterias intestinales que comparten antígenos comunes con *Helicobacter pylori* [170].
- A pesar de que la mucosa gástrica y su contenido se reemplazan completamente en una semana [171], es posible que tras una erradicación efectiva queden antígenos de *Helicobacter pylori* o formas cocoides de la bacteria en la materia fecal que dan un resultado falso positivo cuando la prueba se utiliza para evaluar el tratamiento de erradicación [164, 172, 173], situación que podría explicar la discrepancia de esta prueba con la prueba de aliento con ^{13}C -urea [174].
- La posible retención de antígenos (no viables) de *Helicobacter pylori* por largos períodos en el colon, por ejemplo, en el apéndice o en divertículos [24].

Resultados falsos negativos

Como en el caso anterior, a diferencia de la prueba de aliento con ^{13}C -urea en donde los resultados falsos negativos son muy raros, en la búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal los resultados falsos negativos también pueden presentarse por encima del 10% [164, 166, 167, 175-182]. Las causas que con mayor frecuencia se asocian con resultados falsos negativos son las siguientes:

- El punto de corte de la prueba por encima del que realmente corresponde a la población y edad del paciente [168, 169], de ahí la necesidad de validar la prueba localmente [24].
- Falla técnica si la muestra de materia fecal es diluida por encima de 1:10 durante la realización de la prueba [183] o no ha sido conservada adecuadamente [184], situaciones que técnicamente pueden ser difíciles de controlar teniendo en cuenta el tipo de muestra.
- Reducción de la carga bacteriana, en el estómago o en la materia fecal, a niveles no detectables por la prueba [24].
- La variabilidad antigénica de *Helicobacter pylori* puede inducir a que la prueba no detecte la infección si el antígeno de *Helicobacter pylori* excretado en la materia fecal no es reconocido por el anticuerpo incluido en el estuche de la prueba [24]. Por lo anterior, similar a lo que sucede con la serología, la prueba debe ser validada en la población antes de ser utilizada en la práctica clínica [24].
- Los inhibidores de bomba de protones son responsables de resultados falsos negativos entre el 15% y el 25%, y el bismuto entre el 10% y 15%, negativización que desaparece después de dos semanas de descontinuada la droga [78].
- Los antígenos de *Helicobacter pylori* se pueden encontrar diluidos en grandes cantidades de materia fecal en individuos que consumen dietas ricas en fibra [185], una razón más para validar la prueba localmente y ajustar los puntos de corte.

Otros aspectos relevantes de los antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal

Otros aspectos a tener en cuenta con relación a la búsqueda de antígenos de *Helicobacter pylori* en materia fecal son los siguientes:

- En términos generales, la prueba, dependiendo de la técnica utilizada, es una prueba simple y fácil de hacer; se tiene un resultado relativamente rápido, no requiere personal entrenado y la muestra puede tomarla el mismo paciente [186], entre otras características a su favor.

- La prueba puede ser particularmente útil en niños con sospecha de estar infectados por *Helicobacter pylori* especialmente en menores de 3 años, en los cuales la toma de muestra de aliento es difícil [187, 188].
- Para asegurar los resultados de la prueba es necesario tener en cuenta algunos aspectos críticos. La muestra puede ser conservada hasta por 3 días refrigerada a una temperatura de 2°C a 8°C, y hasta 225 días congelada a -80°C sin perder las características analíticas [184]. A diferencia de la prueba de aliento con ¹³C-urea que puede remitirse por correo para ser analizada en laboratorios especializados [158, 159] o guardarse por largos períodos [189] sin alterar el desempeño analítico, la sensibilidad del antígeno de *Helicobacter pylori* en materia fecal es de 85% después de un día de transporte y se reduce a 69% cuando en vez de un día son 2 a 3 días [24]. Además, los estudios que han evaluado la aceptación de las pruebas en materia fecal y de aliento en la población de pacientes han mostrado claramente que la prueba de aliento con ¹³C-urea tiene una mejor aceptación en una proporción de 60% versus 5% y es indiferente para el 35% de los encuestados [190].
- Puede presentarse marcada discrepancia de los resultados del antígeno de *Helicobacter pylori* en materia fecal con respecto a los resultados de la prueba de aliento con ¹³C-urea, que dependiendo de la indicación de la prueba se puede presentar en el 37% cuando se usa para evaluar el resultado del tratamiento de erradicación y en el 19% cuando se usa en el diagnóstico inicial de la infección por *Helicobacter pylori*; la principal discrepancia se presenta con una prueba de antígeno de *Helicobacter pylori* en materia fecal positiva y una prueba de aliento con ¹³C-urea negativa, lo que podría interpretarse como un resultado falso positivo para la primera como resultado de bacterias muertas después del tratamiento de erradicación [174].

Conclusiones

Las pruebas no invasivas están indicadas: (1) para el diagnóstico de la infección por *Helicobacter pylori* en individuos que no requieran endoscopia digestiva alta, (2) en pacientes con dificultad para obtener biopsia (por ejemplo pacientes con úlceras sangrantes, con anticoagulación, con trombocitopenia), (3) para la evaluación de los tratamientos de erradicación y (4) en estudios epidemiológicos. Con relación a qué prueba se debe utilizar, la serología no tiene utilidad clínica ni en el diagnóstico ni en el seguimiento postratamiento de erradicación, sobretodo cuando se dispone de otras técnicas, como la prueba de aliento con ¹³C-urea, con mayor desempeño clínico como claramente está definido en los distintos consensos, en particular en los dos últimos consensos de Maastricht.

Summary: Infection by *Helicobacter pylori* is the most common chronic infection in human kind. *Helicobacter pylori* infection has been associated with the pathogenesis of gastric diseases such as gastritis, duodenal ulcer, gastric ulcer, gastric cancer and MALT lymphomas, and with a wide variety of extradigestive diseases including hematologic, dermatologic, cardiovascular and autoimmune. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection can be established by invasive methods, by means of endoscopy, and by non-invasive methods including serology, ¹³C-urea breath test and *Helicobacter pylori* antigen stool test. The present module describes and compares these non-invasive methods for the diagnosis and treatment of *Helicobacter pylori* infection, to inform the physician about the differences between the techniques available in the media.

Key words: *Helicobacter pylori*, diagnosis, serology, ¹³C-urea breath test, antigen stool test.

Campuzano-Maya G. Non-invasive diagnosis of *Helicobacter pylori*: ¿serology, ¹³C-urea breath test or antigen stool test?. Medicina & Laboratorio 2007; 13: 211-232.

Module 1 (Clinic and laboratory), number 62. Editora Médica Colombiana S.A., 2007®.

Bibliografía

1. Crowe SE. *Helicobacter* infection, chronic inflammation, and the development of malignancy. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 32-38.
2. Weaver LT. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene Meeting at Manson House, London, 16 February 1995. Aspects of *Helicobacter pylori* infection in the developing and developed world. *Helicobacter pylori* infection, nutrition and growth of West African infants. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89: 347-350.
3. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 1175-1186.
4. Dubois S, Kearney DJ. Iron-deficiency anemia and *Helicobacter pylori* Infection: a review of the evidence. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 453-459.
5. Kaptan K, Beyan C, Ural AU, Cetin T, Avcu F, Gulsen M, et al. *Helicobacter pylori*-is it a novel causative agent in Vitamin B₁₂ deficiency? *Arch Intern Med* 2000; 160: 1349-1353.
6. Gupta V, Eden AJ, Mills MJ. *Helicobacter pylori* and autoimmune neutropenia. *Clin Lab Haematol* 2002; 24: 183-185.
7. Machet L, Vaillant L, Machet MC, Buchler M, Lorette G. Schönlein-Henoch purpura associated with gastric *Helicobacter pylori* infection. *Dermatology* 1997; 194: 86.
8. Campuzano-Maya G. Proof of an association between *Helicobacter pylori* and idiopathic thrombocytopenic purpura in Latin America. *Helicobacter* 2007; 12: 265-273.
9. Boixeda de Miquel D, Vazquez Romero M, Vazquez Sequeiros E, Foruny Olcina JR, Boixeda de Miquel P, Lopez San Roman A, et al. Effect of *Helicobacter pylori* eradication therapy in rosacea patients. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 501-509.
10. De Luis DA, Varela C, de La Calle H, Canton R, de Argila CM, San Roman AL, et al. *Helicobacter pylori* infection is markedly increased in patients with autoimmune atrophic thyroiditis. *J Clin Gastroenterol* 1998; 26: 259-263.
11. Mendall MA, Goggin PM, Molineaux N, Levy J, Toosy T, Strachan D, et al. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *Br Heart J* 1994; 71: 437-439.
12. Kowalski M, Pawlik M, Konturek JW, Konturek SJ. *Helicobacter pylori* infection in coronary artery disease. *J Physiol Pharmacol* 2006; 57 Suppl 3: 101-111.
13. Sawayama Y, Ariyama I, Hamada M, Otaguro S, Machi T, Taira Y, et al. Association between chronic *Helicobacter pylori* infection and acute ischemic stroke: Fukuoka Hara-sanshin Atherosclerosis Trial (FHAT). *Atherosclerosis* 2005; 178: 303-309.
14. Zentilin P, Seriole B, Dulbecco P, Caratto E, Iiritano E, Fasciolo D, et al. Eradication of *Helicobacter pylori* may reduce disease severity in rheumatoid arthritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1291-1299.
15. El Miedany YM, Baddour M, Ahmed I, Fahmy H. Sjögren's syndrome: concomitant *H. pylori* infection and possible correlation with clinical parameters. *Joint Bone Spine* 2005; 72: 135-141.
16. Figura N, Di Cairano G, Lore F, Guarino E, Gragnoli A, Cataldo D, et al. The infection by *Helicobacter pylori* strains expressing CagA is highly prevalent in women with autoimmune thyroid disorders. *J Physiol Pharmacol* 1999; 50: 817-826.
17. Bytzer P. Cost-effectiveness of gastroscopy. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31: 749-760.
18. McCloy R. Asleep on the job: sedation and monitoring during endoscopy. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1992; 192: 97-101.
19. Quine MA, Bell GD, McCloy RF, Charlton JE, Devlin HB, Hopkins A. Prospective audit of upper gastrointestinal endoscopy in two regions of England: safety, staffing, and sedation methods. *Gut* 1995; 36: 462-467.
20. Nelson DB. Infectious disease complications of GI endoscopy: Part I, endogenous infections. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 546-556.
21. Nelson DB. Infectious disease complications of GI endoscopy: part II, exogenous infections. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 695-711.
22. Thijs JC, van Zwet AA, Thijs WJ, Oey HB, Karrenbeld A, Stellaard F, et al. Diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a prospective evaluation of their accuracy, without selecting a single test as the gold standard. *Am J Gastroenterol* 1999; 91: 2125-2129.
23. Logan RP, Dill S, Bauer FE, Walker MM, Hirschl AM, Gummert PA, et al. The European ¹³C-urea breath test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1991; 3: 915-921.
24. Gisbert JP, Pajares JM. Stool antigen test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: a systematic review. *Helicobacter* 2004; 9: 347-368.
25. Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: invasive and non-invasive tests. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007; 21: 299-313.
26. Hirschl AM, Makristathis A. Non-invasive *Helicobacter pylori* diagnosis: Stool or breath tests? *Dig Liver Dis* 2005; 37: 732-734.
27. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfil Koch's postulates for *pyloric Campylobacter*. *Med J Aust* 1985; 142: 436-439.
28. Morris A, Nicholson G. Ingestion of *Campylobacter pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987; 82: 192-199.
29. Sobala GM, Crabtree JE, Dixon MF, Schorah CJ, Taylor JD, Rathbone BJ, et al. Acute *Helicobacter pylori* infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology, and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut* 1991; 32: 1415-1418.
30. Figura N. Mouth-to-mouth resuscitation and *Helicobacter pylori* infection. *Lancet* 1996; 347: 1342.
31. Hayashi S, Sugiyama T, Hisano K, Awakawa T, Kurokawa I, Yachi A, et al. Quantitative detection of secretory immunoglobulin A to *Helicobacter pylori* in gastric juice: antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Lab Anal* 1996; 10: 74-77.
32. Rathbone BJ, Wyatt JL, Worsley BW, Shires SE, Trejdosiewicz LK, Heatley RV, et al. Systemic and local

- antibody responses to gastric *Campylobacter pyloridis* in non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1986; 27: 642-647.
33. **Marshall BJ, McGeechie DB, Francis GJ, Utley PJ.** Pyloric campylobacter serology. *Lancet* 1984; 2: 281.
34. **Warren J, Marshall B.** Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1273-1275.
35. **Stacey AR, Hawtin PR, Newell DG.** Antigenicity of fractions of *Helicobacter pylori* prepared by fast protein liquid chromatography and urease captured by monoclonal antibodies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1990; 9: 732-737.
36. **von Wulffen H, Heesemann J, Butzow GH, Loning T, Laufs R.** Detection of *Campylobacter pyloridis* in patients with antrum gastritis and peptic ulcers by culture, complement fixation test, and immunoblot. *J Clin Microbiol* 1986; 24: 716-720.
37. **Faulde M, Schroder JP, Sobe D.** Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infections by detection of immunoglobulin G antibodies using an immunoblot technique and enzyme immunoassay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 589-594.
38. **Nilsson I, Ljungh A, Almljun P, Wadstrom T.** Immunoblot assay for serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infections. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 427-432.
39. **Sorberg M, Engstrand L, Strom M, Jonsson KA, Jorbeck H, Granstrom M.** The diagnostic value of enzyme immunoassay and immunoblot in monitoring eradication of *Helicobacter pylori*. *Scand J Infect Dis* 1997; 29: 147-151.
40. **Kist M, Strobel S, Kirchner T, Dammann HG.** Impact of ELISA and immunoblot as diagnostic tools one year after eradication of *Helicobacter pylori* in a multicentre treatment study. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1999; 24: 239-242.
41. **Rocha AM, Rocha GA, Leite JL, Lisboa RL, Silva PV, Queiroz DM.** Immunoblotting for the serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Brazilian patients with and without gastric carcinoma. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004; 99: 189-193.
42. **Treepongkaruna S, Nopchinda S, Taweewongsounon A, Atisook K, Pienvichit P, Vithayasai N, et al.** A Rapid Serologic Test and Immunoblotting for the Detection of *Helicobacter pylori* Infection in Children. *J Trop Pediatr* 2006;
43. **Schaber E, Umlauf F, Stoffler G, Aigner F, Paulweber B, Sandhofer F.** Indirect immunofluorescence test and enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Campylobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 327-330.
44. **Faulde M, Putzker M, Mertes T, Sobe 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.
45. **Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, de Carvalho AS, de Oliveira AM, de Moura SB.** Serodiagnosis of *Helicobacter pylori* infection in children by an indirect immunofluorescence test. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 247-251.
46. **Aceti A, Pennica A, Leri O, Caferro M, Grilli A, Celestino D, et al.** Time-resolved fluoroimmunoassay for *Campylobacter pylori* antibodies. *Lancet* 1989; 2: 505.
47. **Goossens H, Glupczynski Y, Burette A, Van den Borre C, DePrez C, Bodenmann J, et al.** Evaluation of a commercially available complement fixation test for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and for follow-up after antimicrobial therapy. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 3230-3233.
48. **Best LM, Veldhuyzen van Zanten SJ, Bezanson GS, Haldane DJ, Malatjalian DA.** Serological detection of *Helicobacter pylori* by a flow microsphere immunofluorescence assay. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 2311-2317.
49. **Buhling F, Koch G, Wex T, Heimburg A, Vieth M, Leodolter A, et al.** Simultaneous detection and differentiation of anti-*Helicobacter pylori* antibodies by flow microparticle immunofluorescence assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 131-136.
50. **Atherton JC.** Non-endoscopic tests in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11 Suppl 1: 11-20.
51. **Goodwin CS, Bincow E, Peterson G, Sanderson C, Cheng W, Marshall B, et al.** Enzyme-linked immunosorbent assay for *Campylobacter pyloridis*: correlation with presence of *C. pyloridis* in the gastric mucosa. *J Infect Dis* 1987; 155: 488-494.
52. **Pérez-Pérez GI, Dworkin BM, Chodos JE, Blaser MJ.** *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Ann Intern Med* 1988; 109: 11-17.
53. **Evans DJ, Jr., Evans DG, Graham DY, Klein PD.** A sensitive and specific serologic test for detection of *Campylobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 1989; 96: 1004-1008.
54. **Hirschl AM, Rathbone BJ, Wyatt JI, Berger J, Rotter ML.** Comparison of ELISA antigen preparations alone or in combination for serodiagnosing *Helicobacter pylori* infections. *J Clin Pathol* 1990; 43: 511-513.
55. **Negrini R, Zanella I, Savio A, Poiesi C, Verardi R, Ghielmi S, et al.** Serodiagnosis of *Helicobacter pylori*-associated gastritis with a monoclonal antibody competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 599-605.
56. **Loy CT, Irwig LM, Katelaris PH, Talley NJ.** Do commercial serological kits for *Helicobacter pylori* infection differ in accuracy? A meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1138-1144.
57. **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: 772-781.
58. **Adachi K, Kawamura A, Ono M, Masuzaki K, Takashima T, Yuki M, et al.** Comparative evaluation of urine-based and other minimally invasive methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol* 2002; 37: 703-708.

59. Katsuragi K, Noda A, Tachikawa T, Azuma A, Mukai F, Murakami K, et al. Highly sensitive urine-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibody to *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 1998; 3: 289-295.
60. Fujisawa T, Kaneko T, Kumagai T, Akamatsu T, Katsuyama T, Kiyosawa K, et al. Evaluation of urinary rapid test for *Helicobacter pylori* in general practice. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 154-159.
61. Gisbert JP, Cruzado AI, Cabrera MM, Carpio D, Benito LM, Pérez-Poveda JJ, et al. Serología «rápida» para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*. Evaluación de su exactitud comparada con el estándar de oro y su correlación con la serología «clásica». *Gastroenterol Hepatol* 2000; 23: 159-164.
62. Fallone CA, Elizov M, Cleland P, Thompson JA, Wild GE, Lough J, et al. Detection of *Helicobacter pylori* infection by saliva IgG testing. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1145-1149.
63. Marshall B, Howat AJ, Wright PA. Oral fluid antibody detection in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Med Microbiol* 1999; 48: 1043-1046.
64. Loeb MB, Riddell RH, James C, Hunt R, Smaill FM. Evaluation of salivary antibodies to detect infection with *Helicobacter pylori*. *Can J Gastroenterol* 1997; 11: 437-440.
65. Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Jr., Evans DG, Alpert LC, Opekun AR, et al. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1987; 1: 1174-1177.
66. McNulty C, Freeman E, Delaney B. *Helicobacter pylori* test & treat strategy for dyspepsia: a qualitative study exploring the barriers and how to overcome them. *Fam Pract* 2006;
67. Koletzko S, Feydt-Schmidt A. Infants differ from teenagers: use of non-invasive tests for detection of *Helicobacter pylori* infection in children. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 1047-1052.
68. Colin R, Czernichow P, Baty V, Touze I, Brazier F, Bretagne JF, et al. Low sensitivity of invasive tests for the detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with bleeding ulcer. *Gastroenterol Clin Biol* 2000; 24: 31-35.
69. Mahachai V, Vilaichone RK, Kullavanijaya P. Diagnosis method of *Helicobacter pylori* infection in bleeding peptic ulcer. *J Med Assoc Thai* 2002; 85 Suppl 1: S103-108.
70. Vaira D, Menegatti M, Miglioli M. What is the role of *Helicobacter pylori* in complicated ulcer disease? *Gastroenterology* 1997; 113: S78-84.
71. Gisbert JP, Pajares JM. *Helicobacter pylori* and bleeding peptic ulcer: what is the prevalence of the infection in patients with this complication? *Scand J Gastroenterol* 2003; 38: 2-9.
72. Deltente M, Glupczynski Y, De Prez C, Nyst JF, Burette A, Labbe M, et al. The reliability of urease tests, histology and culture in the diagnosis of *Campylobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1989; 160: 19-24.
73. Kokkola A, Rautelin H, Puolakkainen P, Sipponen P, Farkkila M, Haapiainen R, et al. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, ¹³C-urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 138-141.
74. Lehours P, Ruskone-Fourmestraux A, Lavergne A, Cantet F, Mégraud F. Which test to use to detect *Helicobacter pylori* infection in patients with low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma? *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 291-295.
75. Klaamas K, Held M, Wadstrom T, Lipping A, Kurtenkov O. IgG immune response to *Helicobacter pylori* antigens in patients with gastric cancer as defined by ELISA and immunoblotting. *Int J Cancer* 1996; 67: 1-5.
76. Menegatti M, Vaira D, Holton J, Miranda F, Ricci C, Gusmaroli R, et al. Serological response to *Helicobacter pylori* in gastric and non-gastric cancer. *Clin Sci (Lond)* 1996; 91: 219-223.
77. Stoschus B, Dominguez-Munoz JE, Kalhori N, Sauerbruch T, Malfertheiner P. Effect of omeprazole on *Helicobacter pylori* urease activity in vivo. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996; 8: 811-813.
78. Bravo LE, Realpe JL, Campo C, Mera R, Correa P. Effects of acid suppression and bismuth medications on the performance of diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2380-2383.
79. Savarino V, Bisso G, Pivari M, Zentilin P, Bilardi C, Dulbecco P, et al. Effect of gastric acid suppression on ¹³C-urea breath test: comparison of ranitidine with omeprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 291-297.
80. Gatta L, Vakli N, Ricci C, Osborn JF, Tampieri A, Perna F, et al. Effect of proton pump inhibitors and antacid therapy on ¹³C urea breath tests and stool test for *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 823-829.
81. 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.
82. Glupczynski Y, Burette A, Goossens H, DePrez C, Butzler JP. Effect of antimicrobial therapy on the specific serological response to *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1992; 11: 583-588.
83. Cullen DJ, Cullen KJ, Collins BJ, Christiansen KJ, Epis J. Serological assessment of *Helicobacter pylori* eradication. *Lancet* 1992; 340: 1161-1162.
84. Hirschl AM, Brandstatter G, Dragosics B, Hentschel E, Kundi M, Rotter ML, et al. Kinetics of specific IgG antibodies for monitoring the effect of anti-*Helicobacter pylori* chemotherapy. *J Infect Dis* 1993; 168: 763-766.
85. Cutler A, Schubert A, Schubert T. Role of *Helicobacter pylori* serology in evaluating treatment success. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 2262-2266.
86. Cutler AF, Prasad VM. Long-term follow-up of *Helicobacter pylori* serology after successful eradication. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 85-88.

87. Vaira D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, Gatta L, Geminiani A, et al. Review article:invasive and non-invasive tests for *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14 Suppl 3: 13-22.
88. Ekström AM, Held M, Hansson LE, Engstrand L, Nyren O. *Helicobacter pylori* in gastric cancer established by CagA immunoblot as a marker of past infection. *Gastroenterology* 2001; 121: 784-791.
89. Wu AH, Crabtree JE, Bernstein L, Hawtin P, Cockburn M, Tseng CC, et al. Role of *Helicobacter pylori* CagA+ strains and risk of adenocarcinoma of the stomach and esophagus. *Int J Cancer* 2003; 103: 815-821.
90. Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, Irvine EJ, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between cagA seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 2003; 125: 1636-1644.
91. Gwack J, Shin A, Kim CS, Ko KP, Kim Y, Jun JK, et al. CagA-producing *Helicobacter pylori* and increased risk of gastric cancer: a nested case-control study in Korea. *Br J Cancer* 2006; 95: 639-641.
92. Palli D, Masala G, Del Giudice G, Plebani M, Basso D, Berti D, et al. CagA+ *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk in the EPIC-EURGAST study. *Int J Cancer* 2007; 120: 859-867.
93. Cooreman M, Hengels KJ, Krausgrill P, Strohmeyer G. [¹³C-urea breath test as a non-invasive method for the detection of *Helicobacter (Campylobacter) pylori*]. *Dtsch Med Wochenschr* 1990; 115: 367-371.
94. Dill S, Payne-James JJ, Misiewicz JJ, Grimble GK, McSwiggan D, Pathak K, et al. Evaluation of ¹³C-urea breath test in the detection of *Helicobacter pylori* and in monitoring the effect of tripotassium dicitratobismuthate in non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1990; 31: 1237-1241.
95. Bell GD, Powell K, Weil J, Harrison G, Brookes S, Prosser S. ¹³C-urea breath test for *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1991; 32: 551-552.
96. Logan RP, Polson RJ, Misiewicz JJ, Rao G, Karim NQ, Newell D, et al. Simplified single sample ¹³Carbon urea breath test for *Helicobacter pylori*: comparison with histology, culture, and ELISA serology. *Gut* 1991; 32: 1461-1464.
97. Lotterer E, Ramaker J, Ludtke FE, Tegeler R, Geletneký JV, Bauer FE. The simplified ¹³C-urea breath test-one point analysis for detection of *Helicobacter pylori* infection. *Z Gastroenterol* 1991; 29: 590-594.
98. Prosser SJ, Brookes ST, Linton A, Preston T. Rapid, automated analysis of ¹³C and ¹⁸O of CO₂ in gas samples by continuous-flow, isotope ratio mass spectrometry. *Biol Mass Spectrom* 1991; 20: 724-730.
99. Klein PD, Graham DY. Minimum analysis requirements for the detection of *Helicobacter pylori* infection by the ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1993; 88: 1865-1869.
100. Lotterer E, Ludtke FE, Tegeler R, Lepsien G, Bauer FE. The ¹³C-urea breath test-detection of *Helicobacter pylori* infection in patients with partial gastrectomy. *Z Gastroenterol* 1993; 31: 115-119.
101. Blecker U, Vandenplas Y, Lanciers S, Mehta DI. Concordance between serology and ¹³C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 459.
102. Braden B, Haisch M, Duan LP, Lembcke B, Caspary WF, Hering P. Clinically feasible stable isotope technique at a reasonable price: analysis of ¹³CO₂/¹²CO₂-abundance in breath samples with a new isotope selective-nondispersive infrared spectrometer. *Z Gastroenterol* 1994; 32: 675-678.
103. Vandenplas Y, Blecker U, Devreker T, Keppens E, Nijs J, Cadranet S, et al. Contribution of the ¹³C-urea breath test to the detection of *Helicobacter pylori* gastritis in children. *Pediatrics* 1992; 90: 608-611.
104. Campuzano-Maya G. Prueba de aliento con ¹³C-urea para *Helicobacter pylori*. Utilidad clínica e indicaciones. *Medicina & Laboratorio* 1998; 8: 607-626.
105. Campuzano-Maya G. Prueba de aliento con ¹³C-urea en el diagnóstico de *Helicobacter pylori*. *Anales de la Academia de Medicina de Medellín* 1999; 12: 25-37.
106. Campuzano-Maya G. An optimized ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Chem (in press)*.
107. Ellenrieder V, Glasbrenner B, Stoffels C, Weiler S, Bode G, Moller P, et al. Qualitative and semi-quantitative value of a modified ¹³C-urea breath test for identification of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9: 1085-1089.
108. Eppe HJ, Kirstein FW, Bojarski C, Frege J, Fromm M, Riecken EO, et al. 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* 1997; 32: 308-314.
109. Perri F, Clemente R, Pastore M, Quitadamo M, Festa V, Bisceglia M, et al. The ¹³C-urea breath test as a predictor of intra gastric bacterial load and severity of *Helicobacter pylori* gastritis. *Scand J Clin Lab Invest* 1998; 58: 19-27.
110. Vincent P, Michaud L, Martin de Lasalle E, Benon B, Turck D, Gottrand F. ¹³C-urea breath test and gastric mucosal colonization by *Helicobacter pylori* in children: quantitative relation and usefulness for diagnosis of infection. *Helicobacter* 1999; 4: 233-237.
111. Braden B, Gelbmann C, Dietrich CF, Caspary WF, Scholmerich J, Lock G. Qualitative and quantitative clinical evaluation of the laser-assisted ratio analyser for detection of *Helicobacter pylori* infection by ¹³C-urea breath tests. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 807-810.
112. Chang MC, Chang YT, Sun CT, Wu MS, Wang HP, Lin JT. Quantitative correlation of *Helicobacter pylori* stool antigen (HpSA) test with ¹³C-urea breath test (¹³C-UBT) by the updated Sydney grading system of gastritis. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 576-579.
113. Glupczynski Y. Microbiological and serological diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: an overview. *Acta Gastroenterol Belg* 1998; 61: 321-326.

114. **Graham DY, Klein PD.** Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. ¹³C-urea breath test. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 885-893, x.
115. **Gisbert JP, Pajares JM.** Review article: C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection, a critical review. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1001-1017.
116. **McNulty C, Teare L, Owen R, Tompkins D, Hawtin P, McColl K.** Test and treat for dyspepsia—but which test? *Bmj* 2005; 330: 105-106.
117. **Talley NJ, Vakil N, Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology.** Guidelines for the management of dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2324-2337.
118. **Koletzko S, Haisch M, Seeboth I, Braden B, Hengels K, Koletzko B, et al.** Isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for detection of *Helicobacter pylori* infection with ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1995; 345: 961-962.
119. **Dominguez-Muñoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malfertheiner P.** A citric acid solution is an optimal test drink in the ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 459-462.
120. **Leodolter A, Dominguez-Munoz JE, Von Arnim U, Malfertheiner P.** Citric acid or orange juice for the ¹³C-urea breath test: the impact of pH and gastric emptying. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1057-1062.
121. **Savarino V, Mela GS, Zentilin P, Bisso G, Pivari M, Mansi C, et al.** Comparison of isotope ratio mass spectrometry and nondispersive isotope-selective infrared spectroscopy for ¹³C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1203-1208.
122. **Gisbert JP, Vazquez MA, Jimenez I, Cruzado AI, Carpio D, Del Castillo E, et al.** ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection before treatment: is citric acid necessary? *Dig Liver Dis* 2000; 32: 20-24.
123. **Wong WM, Wong BC, Li TM, Wong KW, Cheung KL, Fung FM, et al.** Twenty-minute 50 mg ¹³C-urea breath test without test meal for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Chinese. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1499-1504.
124. **Wong WM, Lam SK, Lai KC, Chu KM, Xia HH, Wong KW, et al.** A rapid-release 50-mg tablet-based ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 253-257.
125. **Gatta L, Vakil N, Ricci C, Osborn JF, Tampieri A, Perna F, et al.** A rapid, low-dose, ¹³C-urea tablet for the detection of *Helicobacter pylori* infection before and after treatment. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 793-798.
126. **Urita Y, Hike K, Torii N, Kikuchi Y, Kanda E, Kurakata H, et al.** Breath sample collection through the nostril reduces false-positive results of ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 661-665.
127. **Peng NJ, Lai KH, Liu RS, Lee SC, Tsay DG, Lo CC, et al.** Capsule ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1361-1364.
128. **Kopacova M, Bures J, Vorisek V, Konstacky M, Rejchrt S, Zivny P, et al.** Comparison of different protocols for ¹³C-urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in healthy volunteers. *Scand J Clin Lab Invest* 2005; 65: 491-498.
129. **Gatta L, Ricci C, Tampieri A, Osborn J, Perna F, Bernabucci V, et al.** Accuracy of breath tests using low doses of ¹³C-urea to diagnose *Helicobacter pylori* infection: a randomised controlled trial. *Gut* 2006; 55: 457-462.
130. **Delaney BC, Moayyedi P, Forman D.** Initial management strategies for dyspepsia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; CD001961.
131. **Moayyedi P, Soo S, Deeks J, Delaney B, Harris A, Innes M, et al.** Eradication of *Helicobacter pylori* for non-ulcer dyspepsia. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; CD002096.
132. **Malfertheiner P, Mégraud F, O'Morain C, Hungin AP, Jones R, Axon A, et al.** Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 167-180.
133. **Goodman KJ, Correa P, Tengana Aux HJ, Ramírez H, Delany JP, Guerrero Pepinosa O, et al.** *Helicobacter pylori* infection in the Colombian Andes: a population-based study of transmission pathways. *Am J Epidemiol* 1996; 144: 290-299.
134. **Bravo LE, Mera R, Reina JC, Pradilla A, Alzate A, Fonham E, et al.** Impact of *Helicobacter pylori* infection on growth of children: a prospective cohort study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 614-619.
135. **Mera RM, Correa P, Fonham EE, Reina JC, Pradilla A, Alzate A, et al.** Effects of a new *Helicobacter pylori* infection on height and weight in Colombian children. *Ann Epidemiol* 2006; 16: 347-351.
136. **Campuzano-Maya G, Hoyos-Castaño D, Calvo-Betancur VD, Suárez-Ramírez OA, Lizcano-Cardona D, Rojas-Arbeláez CA.** Prevalencia de la infección por *Helicobacter pylori* en médicos de Medellín, Colombia. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2007; 37: por definir.
137. **Hillman JD, Socransky SS, Shivers M.** The relationships between streptococcal species and periodontopathic bacteria in human dental plaque. *Arch Oral Biol* 1985; 30: 791-795.
138. **Pytko-Polonczyk J, Konturek SJ, Karczewska E, Bielanski W, Kaczmarczyk-Stachowska A.** Oral cavity as permanent reservoir of *Helicobacter pylori* and potential source of reinfection. *J Physiol Pharmacol* 1996; 47: 121-129.
139. **Lotterer E, Ludtke FE, Tegeler R, Bauer FE.** The ¹³C-urea breath test, *Helicobacter pylori* infection, and the operated stomach. *J Clin Gastroenterol* 1993; 16: 82-84.
140. **Perri F, Festa V, Clemente R, Quitadamo M, Andriulli A.** Methodological problems and pitfalls of urea breath test. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30 Suppl 3: S315-319.

141. **Hellmann KL, Borchard F.** Gastritis due to spiral shaped bacteria other than *Helicobacter pylori*: Clinical, histological, and ultrastructural findings. *Gut* 1991; 32: 137-140.
142. **Mazzucchelli L, Wilder-Smith CH, Ruchti C, Meyer-Wyss B, Merki HS.** *Gastrospirillum hominis* in asymptomatic, healthy individuals. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 2087-2089.
143. **Schultz-Suchting F, Stallmach T, Braegger CP.** Treatment of *Helicobacter heilmannii*-associated gastritis in a 14-year-old boy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 28: 341-342.
144. **Perri F, Maes B, Geypens B, Ghooys Y, Hiele M, Rutgeerts P.** The influence of isolated doses of drugs, feeding and colonic bacterial ureolysis on urea breath test results. *Aliment Pharmacol Ther* 1995; 9: 705-709.
145. **Logan RP.** Urea breath tests in the management of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1998; 43 Suppl 1: S47-50.
146. **Connor SJ, Seow F, Ngu MC, Katelaris PH.** The effect of dosing with omeprazole on the accuracy of the ¹³C-urea breath test in *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1287-1293.
147. **Connor SJ, Ngu MC, Katelaris PH.** The impact of short-term ranitidine use on the precision of the ¹³C-urea breath test in subjects infected with *Helicobacter pylori*. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 1135-1138.
148. **Moayyedi P, Braunholtz D, Heminbrough E, Clough M, Tompkins DS, Mapstone NP, et al.** Do patients need to fast for a ¹³C-urea breath test? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1997; 9: 275-277.
149. **Atherton JC, Spiller RC.** The urea breath test for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1994; 35: 723-725.
150. **Chey WD, Spybrook M, Carpenter S, Nostrant TT, Elta GH, Scheiman JM.** Prolonged effect of omeprazole on the ¹⁴C-urea breath test. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 89-92.
151. **Chey WD.** Proton pump inhibitors and the urea breath test: how long is long enough? *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 720-721.
152. **Laine L, Estrada R, Trujillo M, Knigge K, Fennerty MB.** Effect of proton-pump inhibitor therapy on diagnostic testing for *Helicobacter pylori*. *Ann Intern Med* 1998; 129: 547-550.
153. **Parente F, Sainaghi M, Sangaletti O, Imbesi V, McOni G, Anderloni A, et al.** Different effects of short-term omeprazole, lansoprazole or pantoprazole on the accuracy of the (13)C-urea breath test. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 553-557.
154. **Graham DY, Opekun AR, Yamaoka Y, Osato MS, el-Zimaity HM.** Early events in proton pump inhibitor-associated exacerbation of corpus gastritis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 193-200.
155. **Dulbecco P, Gambaro C, Bilardi C, Zentilin P, Mele MR, Mansi C, et al.** Impact of long-term ranitidine and pantoprazole on accuracy of [¹³C]urea breath test. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 315-321.
156. **Adachi K, Fujishiro H, Mihara T, Komazawa Y, Kinoshita Y.** Influence of lansoprazole, famotidine, roxatidine and rebamipide administration on the urea breath test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 168-171.
157. **Malfertheiner P, Leodolter A, Gerards C.** Pitfalls in *Helicobacter pylori* diagnosis. In *Helicobacter pylori*. Basic mechanisms to clinical cure. 2000, Hunt RH and Tytgat GN. Hluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 2000; 123-138.
158. **Bazzoli F, Zagari M, Fossi S, Pozzato P, Ricciardiello L, Mwangemi C, et al.** Urea breath tests for the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 1997; 2 Suppl 1: S34-37.
159. **Coelho LG, Reber M, Passos MC, Aguiar RO, Casaes PE, Bueno ML, et al.** Application of isotope-selective non-dispersive infrared spectrometry for the evaluation of the ¹³C-urea breath test: comparison with three concordant methods. *Braz J Med Biol Res* 1999; 32: 1493-1497.
160. **Makristathis A, Pasching E, Schutze K, Wimmer M, Rotter ML, Hirschl AM.** Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2772-2774.
161. **Vaira D, Holton J, Menegatti M, Ricci C, Landi F, Ali A, et al.** New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45 Suppl 1: I23-27.
162. **Trevisani L, Sartori S, Galvani F, Rossi MR, Ruina M, Chiamenti C, et al.** Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in feces: a prospective pilot study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1830-1833.
163. **Romero Gomez M, Vargas J, Grande L, Otero MA, Bernal S, Castro Fernandez M.** [Usefulness of *Helicobacter pylori* antigen detection in stools in the diagnosis of infection and confirming eradication after treatment]. *Med Clin (Barc)* 2000; 114: 571-573.
164. **Forné M, Domínguez J, Fernández-Banares F, Lite J, Esteve M, Galí N, et al.** Accuracy of an enzyme immunoassay for the detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens in the diagnosis of infection and posttreatment check-up. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 2200-2205.
165. **Costa F, Mumolo MG, Bellini M, Romano MR, Manghetti M, Paci A, et al.** Post-treatment diagnostic accuracy of a new enzyme immunoassay to detect *Helicobacter pylori* in stools. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 395-401.
166. **Roth DE, Taylor DN, Gilman RH, Meza R, Katz U, Bautista C, et al.** Posttreatment follow-up of *Helicobacter pylori* infection using a stool antigen immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8: 718-723.
167. **Bilardi C, Biagini R, Dulbecco P, Iiritano E, Gambaro C, Mele MR, et al.** Stool antigen assay (HpSA) is less reliable than urea breath test for post-treatment diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1733-1738.

168. **Vaira D, Malfertheiner P, Mégraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM, et al.** Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. HpSA European study group. *Lancet* 1999; 354: 30-33.
169. **Parente F, Maconi G, Porro GB, Caselli M.** Stool test with polyclonal antibodies for monitoring *Helicobacter pylori* eradication in adults: a critical reappraisal. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 747-749.
170. **Taylor NS, Esteves M, Fox JG.** Cross reactivity with *Helicobacter pylori* species assayed with a *Helicobacter pylori* antigen capture assay. *Gastroenterology* 1999; 116: A830.
171. **Macdonald WC, Trier JS, Everett NB.** Cell Proliferation and Migration in the Stomach, Duodenum, and Rectum of Man: Radioautographic Studies. *Gastroenterology* 1964; 46: 405-417.
172. **Kusters JG, Gerrits MM, Van Strijp JA, Vandenbroucke-Grauls CM.** Coccoid forms of *Helicobacter pylori* are the morphologic manifestation of cell death. *Infect Immun* 1997; 65: 3672-3679.
173. **Kabir S.** Detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction: a review. *Helicobacter* 2004; 9: 115-123.
174. **Masoero G, Lombardo L, Della Monica P, Vicari S, Crocilla C, Duglio A, et al.** Discrepancy between *Helicobacter pylori* stool antigen assay and urea breath test in the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Dig Liver Dis* 2000; 32: 285-290.
175. **McNamara D, Whelan H, Hamilton H, Beattie S, O'Morain C.** HpSA: assessment of a new non-invasive diagnostic assay for *Helicobacter pylori* infection in an Irish population. *Ir J Med Sci* 1999; 168: 111-113.
176. **Husson MO, Rolland C, Gottrand F, Guimber D, Kalach N, Spyckerelle C, et al.** Evaluation of a *Helicobacter pylori* stool antigen test for the diagnosis and follow-up of infections in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 787-789.
177. **Odaka T, Yamaguchi T, Koyama H, Saisho H, Nomura F.** Evaluation of the *Helicobacter pylori* stool antigen test for monitoring eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 594-599.
178. **Leodolter A, Peitz U, Ebert MP, Agha-Amiri K, Malfertheiner P.** Comparison of two enzyme immunoassays for the assessment of *Helicobacter pylori* status in stool specimens after eradication therapy. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1682-1686.
179. **Perri F, Manes G, Neri M, Vaira D, Nardone G.** *Helicobacter pylori* antigen stool test and ¹³C-urea breath test in patients after eradication treatments. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2756-2762.
180. **Gosciniak G, Przondo-Mordarska A, Iwanczak B, Blitek A.** *Helicobacter pylori* antigens in stool specimens of gastritis children before and after treatment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 36: 376-380.
181. **Matsuda M, Noda Y, Takemori Y.** Utility and limitations of a method for detecting *Helicobacter pylori*-specific antigens in the stool. *J Gastroenterol* 2003; 38: 222-228.
182. **Orsini B, Nuti M, Ottanelli B, Ortolani M, Surrenti E, Milani S, et al.** *Helicobacter pylori* stool antigen test before and after eradication therapy. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 127-128.
183. **Shimizu T, Fujii T, Haruna H, Shoji H, Kudo T, Yamashiro Y.** Effects of stool dilution on the faecal *Helicobacter pylori* antigen test. *J Paediatr Child Health* 2003; 39: 286-288.
184. **Yee YK, Yip KT, Que TL, Chang KK, Li KF, Lee CK, et al.** Efficacy of enzyme immunoassay for the detection of *Helicobacter pylori* antigens in frozen stool specimens: local validation. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1739-1742.
185. **Kim PS, Lee JW, Pai SH, Kim YB, Cho JK, Lee JW, et al.** Detection of *Helicobacter pylori* antigen in stool by enzyme immunoassay. *Yonsei Med J* 2002; 43: 7-13.
186. **Vakil N, Affi A, Robinson J, Sundaram M, Phadnis S.** Prospective blinded trial of a fecal antigen test for the detection of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1699-1701.
187. **Kabir S.** Detection of *Helicobacter pylori* in faeces by culture, PCR and enzyme immunoassay. *J Med Microbiol* 2001; 50: 1021-1029.
188. **Kabir S.** Review article: clinic-based testing for *Helicobacter pylori* infection by enzyme immunoassay of faeces, urine and saliva. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17: 1345-1354.
189. **Colaioeco Ferrante L, Papponetti M, Marcuccitti J, Neri M, Festi D.** ¹³C-urea breath test for *Helicobacter pylori* infection: stability of samples over time. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 942-943.
190. **Vakil N.** Review article: the cost of diagnosing *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15 Suppl 1: 10-15.