

ORIGINALES

Anticuerpos frente a *Helicobacter pylori* en saliva. Estudio de su validez frente a la prueba del aliento y de su concordancia con la serología

R. García Valriberas, J.P. Gisbert, C. Hermida, M.M. Cabrera, J. Díaz Blasco y J.M. Pajares

Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

Objetivo. Evaluar prospectivamente la validez de un nuevo método diagnóstico a partir de una muestra de saliva, tomando como referencia la prueba del aliento con urea marcada con ^{13}C , así como comparar los resultados de esta técnica con otro método indirecto basado en la detección de anticuerpos, la serología «clásica» realizada a partir de sangre venosa.

Métodos. Se estudiaron prospectivamente 48 individuos, 24 voluntarios sanos y 24 pacientes consecutivos con enfermedad ulcerosa gastroduodenal. Se consideró criterio de exclusión el tratamiento durante el último mes con fármacos gastroerosivos, antibióticos, inhibidores de la bomba de protones y derivados del bismuto, la administración previa de tratamiento erradicador de *H. pylori*, la cirugía gástrica y la presencia de enfermedades asociadas. Para la realización del test diagnóstico en saliva se empleó un enzimoimmunoanálisis (ELISA) comercial (Helisa[®]). Para la serología en sangre se empleó un ELISA comercial (Helico-G[®]). El personal responsable de la lectura del test en saliva, de la serología y de la prueba del aliento desconocían el resultado de los demás métodos diagnósticos. Como patrón de referencia de infección por *H. pylori* se consideró el resultado de la prueba del aliento con ^{13}C -urea (TAU-kit[®]).

Resultados. La edad media de los voluntarios sanos fue de $23 \pm 0,7$ años y de 55 ± 18 en los ulcerosos. La prevalencia de infección por *H. pylori*, valorada por el «patrón oro», fue del 79,2% en los ulcerosos y del 54% en los voluntarios. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y exactitud diagnóstica del test en saliva en los ulcerosos fue, respectivamente: 100% (IC del 95%, 79-99), 60% (17-93), 90% (68-98), 100% (31-97) y 92% (71-98). Por su parte, dichos valores en los voluntarios fueron: 46% (20-74), 73% (39-93), 67% (31-91), 53% (27-78) y 58% (37-77). Los resultados de la serología fueron mejores, destacando una sensibilidad del 100% en ambos grupos, con una notable exactitud diagnóstica (92% y 96%, respectivamente para los ulcerosos y los voluntarios). La concordancia entre la serología y el test en saliva en los enfermos ulcerosos fue perfecta (κ , 1), mientras que en los individuos asintomáticos fue deficiente (κ , 0,28) y las prevalencias de infección diagnosticadas con ambas pruebas en este último grupo no fueron homogéneas (McNemar, 2,8; $p < 0,05$).

Conclusión. El test diagnóstico de infección por *H. pylori* en saliva posee una deficiente exactitud diagnóstica en los individuos sanos, lo que indica que no es útil para el cribado de la infección en la población asintomática. El valor de esta técnica en los pacientes ulcerosos es mayor, aunque no alcanza los valores de especificidad deseables. Por todo ello, el test en saliva evaluado en el presente estudio no puede ser recomendado para realizar el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

Palabras clave: Anticuerpos; Diagnóstico; ELISA; Enzimoimmunoanálisis; *Helicobacter pylori*; Prueba aliento.

HELICOBACTER PYLORI ANTIBODIES IN SALIVA. STUDY OF THEIR VALIDITY VERSUS THE BREATH TEST AND THEIR CONCORDANCE WITH SEROLOGY

Objectives. To evaluate prospectively the validity of a new diagnostic method based on a saliva sample, taking as reference the breath test with ^{13}C -marked urea, and to compare the results of this technique with another indirect method based on the detection of antibodies, «classical» serology using venous blood.

Methods. 48 individuals, 24 healthy volunteers and 24 consecutive patients with gastro-duodenal ulcer disease, were studied prospectively. Treatment during the previous month with gastro-erosive medication, antibiotics, proton-pump inhibitors or bismuth-derived drugs, prior treatment to eradicate *H. pylori*, gastric surgery and the presence of linked illnesses, were all considered criteria of exclusion from the study. For the diagnostic test in saliva a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, trademark Helisa) was used; and for blood serology, another commercial ELISA (Helico-G). The staff responsible for reading the saliva, serology and breath tests did not know the result of the other diagnostic methods. The result of the breath test with ^{13}C -urea (TAU-kit) was taken as the reference standard for *H. pylori* infection.

Results. The mean age of the healthy volunteers was $23 \pm 0,7$ years; and of ulcer patients, 55 ± 18 . The prevalence of *H. pylori* infection, valued by the gold standard, was 79.2% in the ulcer patients and 54% in the volunteers. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and diagnostic accuracy of the saliva test in the ulcer patients were, respectively: 100% (95% CI, 79-99), 60% (17-93), 90% (68-98), 100% (31-97) and 92% (71-98). In the volunteers these figures were: 46% (20-74), 73% (39-93), 67% (31-91), 53% (27-78) and 58% (37-77). The serology results were better, with 100% sensitivity in both groups and outstanding diagnostic accuracy (92% and 96% for ulcer patients and volunteers, respectively). Concordance between serology and the saliva test in ulcer patients was perfect (κ , 1). However, in asymptomatic individuals concordance was deficient (κ , 0,28), and the prevalence of infection diagnosed with the two tests was not homogeneous (McNemar, 2,8; $p < 0,05$).

Conclusion. The diagnostic test for *H. pylori* infection in saliva is lacking in diagnostic accuracy in healthy individuals, which indicates that it cannot be used for screening infection in the asymptomatic population. The technique is more valuable in ulcer patients, although it does not reach the specificity desirable. For these reasons, the saliva test evaluated in this study cannot be recommended for diagnosis of *H. pylori* infection.

(Aten Primaria 2000; 25: 390-394)

Correspondencia: Javier P. Gisbert.
Playa de Mojácar 29. Urb. Bonanza. 28669 Boadilla del Monte. Madrid.
Correo electrónico: gisbert@meditex.es

Manuscrito aceptado para su publicación el 3-XI-1999.

Introducción

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) desempeña un papel fundamental en el desarrollo de diversas enfermedades digestivas, como la úlcera gastroduodenal y el adenocarcinoma y linfoma gástricos, por lo que su identificación representa un capítulo clínicamente relevante. Los métodos diagnósticos de la infección por *H. pylori* se dividen tradicionalmente en directos e indirectos. Los primeros se basan en la demostración del microorganismo mediante el estudio de muestras obtenidas por biopsia gástrica, mientras que los segundos se basan en el estudio y la detección de ciertas características de la bacteria (por ejemplo, la capacidad de hidrolizar la urea, propiedad en la que se basa la prueba del aliento) o de la respuesta del sistema inmunitario del huésped frente a la infección (medición de anticuerpos específicos mediante las diversas pruebas serológicas)¹. Este último tipo de técnicas no precisan endoscopia y, por lo tanto, pueden considerarse poco agresivas para el enfermo.

Recientemente se ha descrito una nueva técnica indirecta, a partir de una muestra de saliva, para la detección de anticuerpos IgG frente a *H. pylori*. Aunque, evidentemente, este método goza de una mayor rapidez y facilidad de empleo, que lo haría especialmente útil para el diagnóstico de la infección por *H. pylori* en atención primaria, no está establecida su exactitud diagnóstica. Además, no existe ningún estudio publicado en nuestro país que evalúe precisamente esta técnica diagnóstica.

El objetivo de nuestro estudio fue evaluar prospectivamente la validez de un nuevo método diagnóstico a partir de una muestra de saliva, tomando como referencia la prueba del

aliento con urea marcada con ^{13}C , así como comparar los resultados de esta técnica con otro método indirecto basado en la detección de anticuerpos, la serología «clásica» realizada a partir de sangre venosa.

Pacientes y métodos

Pacientes

Se estudiaron prospectivamente 48 individuos, 24 voluntarios sanos (estudiantes de medicina, sin síntomas dispépticos ni antecedentes ulcerosos) y 24 pacientes consecutivos con enfermedad ulcerosa documentada por endoscopia (10 úlceras gástricas y 14 úlceras duodenales). Se consideró criterio de exclusión el tratamiento durante el último mes con fármacos gastroerosivos, antibióticos, inhibidores de la bomba de protones y derivados del bismuto, la administración previa de tratamiento erradicador de *H. pylori*, la cirugía gástrica y la presencia de enfermedades asociadas (hepatopatía crónica, insuficiencia cardíaca o respiratoria, insuficiencia renal, diabetes tratada con insulina o enfermedades tumorales). Se obtuvo el consentimiento informado en todos los pacientes.

Detección de anticuerpos en saliva

Para la realización del test diagnóstico en saliva se empleó un enzimoimmunoanálisis (ELISA) comercial (Helisal[®] Kit; Cortecs Diagnostics, Deeside, UK), que detecta anticuerpos específicos IgG contra determinados antígenos proteicos de *H. pylori*, describiéndose a continuación el procedimiento utilizado. A todos los pacientes se les recogió una muestra de saliva mediante un colector especial (Omni-sal[®]) que lleva incorporada una tira absorbente que cambia de color cuando la cantidad obtenida es suficiente. La muestra se introdujo en una cápsula aislante con una solución *buffer* que permite su conservación a temperatura ambiente durante un mes, si bien se puede también almacenar congelada a una temperatura entre -2 y -8 °C. Se prepararon micropocillos con extractos de antígenos de *H. pylori* incubados con soluciones control y estándar sobre los que se depositaron las muestras de saliva humana. Los anticuerpos (IgG) presentes en la saliva comienzan a unirse a los antígenos del microorganismo depositados en los micropocillos, dejando actuar la muestra durante 30 minutos. Después de lavar 5 veces esta solución para eliminar el material no unido, un segundo

anticuerpo anti-IgG humano conjugado con biotina (biotinylated[®]) se incubó durante otros 30 minutos con el complejo antígeno-anticuerpo anterior. El biotinylated[®] no unido es eliminado al lavar y se incubó por tercera vez durante 15 minutos con Horseradish peroxidasa marcada con streptavidina (peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina, HRP). El exceso de enzima es eliminado por tercera vez mediante lavado con una solución de sustrato que contiene tetrametilbencidina (TMB) e hidrógeno peroxidasa, incubándose durante 15 minutos más. En presencia de HRP el TMB muestra un color azul, que torna a amarillo y se intensifica cuando se añade la solución STOP (H_2SO_4 1M). La intensidad del color obtenido es proporcional a la cantidad de anticuerpo IgG-*H. pylori* de la muestra de saliva, y su absorbancia se mide con un lector de espectrometría a 450 nm. Finalmente, se realiza una curva estándar usando la *High standard solution*[®], que contiene 4,0 ELISA unidades/ml (EU) de actividad anti-*H. pylori*, y al diluirlo secuencialmente a concentraciones decrecientes proporciona la curva con la que se comparan las diluciones.

Serología en sangre

Para la realización de la serología en sangre se empleó un enzimoimmunoanálisis (ELISA) comercialmente disponible (Helico-G[®], Porton, Cambridge, UK) y el punto de corte se situó en 10 U/ml, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Prueba del aliento

Se realizó una prueba del aliento con ^{13}C -urea utilizando un *kit* comercial (TAU-kit[®], Isomed, s.l., España) que emplea una solución de ácido cítrico y 100 mg de urea.

Criterios diagnósticos de infección

Como patrón de referencia o «patrón oro» de infección por *H. pylori* se consideró el resultado de la prueba del aliento con ^{13}C -urea, al estar esta técnica validada previamente en nuestro medio² y en otros³, y disponer de una sensibilidad y especificidad cercanas al 100%⁴. El personal responsable de la lectura del test en saliva, de la serología en sangre y de la prueba del aliento desconocían el resultado de los demás métodos diagnósticos.

Estudio estadístico

Se calculó, para cada prueba diagnóstica, la sensibilidad, especificidad, valor predic-

tivo positivo, valor predictivo negativo y exactitud diagnóstica, con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Además, se calculó el cociente de probabilidades positivo y negativo. La concordancia entre el test en saliva y en sangre se valoró mediante el parámetro kappa. Para la comparación de proporciones para datos apareados y para la evaluación de la homogeneidad de marginales se empleó el estadístico de McNemar, mientras que el contraste de proporciones para datos no apareados se realizó mediante la prueba de ji-cuadrado.

Resultados

Las edades en los voluntarios sanos estaban comprendidas entre 22 y 24 años (edad media, $23 \pm 0,7$ [desviación estándar]), y en 21-83 años ($55,2 \pm 18$) en los pacientes ulcerosos. La proporción de varones en dichos grupos fue, respectivamente, del 65 y del 60%. La prevalencia de infección por *H. pylori*, valorada por el «patrón oro», fue del 79,2% ($n = 19$) en los pacientes ulcerosos y del 54% ($n = 13$) en los voluntarios.

La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, exactitud diagnóstica y cociente de probabilidades de la serología a partir de sangre venosa, tanto en los pacientes ulcerosos como en los voluntarios, se resumen en la **tabla 1**. En dicha tabla destaca una sensibilidad del 100% en ambos grupos, con una notable exactitud diagnóstica (92 y 96%, respectivamente, para los ulcerosos y los voluntarios). Por su parte, los parámetros que definen la validez del test diagnóstico en saliva se resumen en la **tabla 2**, donde se aprecia la diferencia de resultados entre los pacientes ulcerosos y los voluntarios, con valores inferiores de sensibilidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo en este último grupo. Así, la exactitud diagnóstica global en los ulcerosos fue del 92%, mientras que en los voluntarios fue únicamente del 58% ($p < 0,01$).

El estadístico kappa de concordancia entre la serología y el test en saliva en los enfermos ulcerosos fue de 1 (error estándar, 0,2), lo que indica que la concordancia fue perfecta según la escala de valoración propuesta por Landis y Koch⁵. Sin embargo, la concordancia entre ambos métodos (sangre y saliva) en los individuos asintomáticos fue pésima (kappa, 0,28; error estándar, 0,2) y las

TABLA 1. Validez diagnóstica de la serología en sangre para la detección de *H. pylori*

	Sensibilidad (IC del 95%)	Especificidad (IC del 95%)	VPP (IC del 95%)	VPN (IC del 95%)	Exactitud (IC del 95%)	CP+	CP-
Pacientes ulcerosos	100% (79-99)	60% (17-93)	90% (68-98)	100% (31-97)	92% (71-98)	2,5	0
Voluntarios sanos	100% (72-99)	91% (57-99)	93% (64-99)	100% (65-99)	96% (77-99)	11,1	0

IC del 95%: intervalo de confianza del 95%; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo; CP+: cociente de probabilidades positivo, y CP-: cociente de probabilidades negativo.

TABLA 2. Validez diagnóstica del test en saliva para la detección de *H. pylori*

	Sensibilidad (IC del 95%)	Especificidad (IC del 95%)	VPP (IC del 95%)	VPN (IC del 95%)	Exactitud (IC del 95%)	CP+	CP-
Pacientes ulcerosos	100% (79-99)	60% (17-93)	90% (68-98)	100% (31-97)	92% (71-98)	2,5	0
Voluntarios sanos	46% (20-74)	73% (39-93)	67% (31-91)	53% (27-78)	58% (37-77)	1,7	0,7

IC del 95%: intervalo de confianza del 95%; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo. CP+: cociente de probabilidades positivo, y CP-: cociente de probabilidades negativo.

prevalencias de infección diagnosticadas con las 2 pruebas no fueron homogéneas (estadístico de McNemar: 2,8; $p < 0,05$).

Discusión

El diagnóstico de la infección por *H. pylori* constituye un capítulo de especial importancia, ya que representa el paso previo para su posterior tratamiento. En algunas ocasiones es preciso practicar una exploración endoscópica, situación en la cual se utilizarán aquellos métodos diagnósticos basados en la biopsia. En otras circunstancias, sin embargo, no es precisa la endoscopia, y es aquí donde desempeñan su papel las técnicas indirectas o «no invasoras», entre las que se encuentran la prueba del aliento y la serología. En este sentido, recientemente se ha propuesto, ante un paciente joven con síntomas dispépticos y sin signos de «alarma», la utilización de la alternativa denominada «test and treat» que, como su nombre indica, se basa en la investigación de la presencia de infección por *H. pylori* mediante métodos diagnósticos indirectos y, en caso de demostrarse, su consiguiente tratamiento⁶.

Otras situaciones en las que los métodos indirectos pueden desempeñar un papel son, por ejemplo: *a*) cuando se trata de un enfermo previamente diagnosticado de úlcera duodenal en el que se desconoce si está infectado por *H. pylori* (porque el diagnóstico inicial fuera realizado por radiología o porque no se obtuvieran biopsias en la endoscopia); *b*) cuando en un enfermo con úlcera duodenal no se

identifique la infección por un método diagnóstico basado en la endoscopia, en este caso con la intención de descartar un resultado falso negativo; *c*) cuando un paciente rechaza la endoscopia o existe contraindicación para la obtención de biopsias y, por último, *d*) cuando se pretende llevar a cabo un estudio epidemiológico, dado que no es concebible realizar de una forma rutinaria estudios endoscópicos a individuos sanos.

Además, los métodos indirectos podrían también emplearse con la intención de disminuir el número de exploraciones endoscópicas. Así, la estrategia denominada «test and scope» se basa en la realización (en los pacientes jóvenes y sin signos de «alarma») de la endoscopia únicamente si se demuestra la infección⁷; esta recomendación descansa en el hecho de que si el resultado (*H. pylori*) es negativo, la probabilidad de que los síntomas se deban a una enfermedad ulcerosa gastroduodenal es remota, lo que permitiría obviar la realización de una endoscopia, debiéndose administrar en este caso tratamiento sintomático.

Una ventaja del test diagnóstico de *H. pylori* en saliva consiste en que, a diferencia de la serología «clásica», no requiere venopunción ni centrifugación de la muestra. Esta ventaja en la sencillez y rapidez de la prueba harían del test en saliva una técnica especialmente útil en atención primaria, donde consultan por primera vez la mayoría de los pacientes con síntomas dispépticos. Por otra parte, su potencial utilidad en la edad pediátrica parece también evidente.

En el presente estudio se ha evaluado prospectivamente la validez de este método diagnóstico en nuestro medio, donde no se ha publicado, que nosotros conocamos, ningún otro estudio al respecto. Nuestros resultados indican que el test en saliva empleado dispone de una correcta exactitud diagnóstica (92%) cuando se emplea en pacientes ulcerosos, si bien está penalizado por una especificidad de tan sólo el 60%. Así, con un valor predictivo negativo del 100%, el test podría ser útil para excluir la infección en los ulcerosos. Por otra parte, cuando este nuevo método se utilizó en el grupo de voluntarios, la exactitud diagnóstica fue notablemente baja, tan sólo del 58% (tabla 2). Así, en este último grupo la sensibilidad fue únicamente del 46%, y la especificidad del 73%. En este sentido, es preciso recordar que las cepas de *H. pylori* varían en función de la enfermedad de base (gastritis, úlcera péptica, cáncer gástrico...)⁸, y que un determinado método diagnóstico (basado en la producción de anticuerpos) puede ser aceptable en una población determinada (por ejemplo, ulcerosos) pero no en otra (por ejemplo, voluntarios sanos). Estos resultados sugieren que el test en saliva no debe emplearse como test de cribado para determinar la infección por *H. pylori* en la población general, donde se requiere un método diagnóstico con una elevada sensibilidad (y, por tanto, un elevado valor predictivo negativo).

Otros estudios han evaluado diversos tests en saliva para el diagnóstico de *H. pylori*, con resultados variables. Algunos autores han constatado

una elevada exactitud diagnóstica⁹⁻¹², mientras que otros han descrito peores resultados, concluyendo, como nosotros, que el empleo de este test no puede recomendarse rutinariamente. Así, los bajos valores de sensibilidad y especificidad obtenidos por diversos autores se resumen a continuación: Fallone et al¹³, 66 y 74%; Reilly et al¹⁴, 84 y 70%; Christie et al¹⁵, 88 y 71%; Luzza et al¹⁶, 82 y 71%, y Simor et al¹⁷, 81 y 75%. Estas discrepancias entre resultados podrían explicarse por las diferencias entre las poblaciones estudiadas, las técnicas de recogida de las muestras de saliva, los ensayos inmunológicos o la selección de los antígenos de la técnica.

Entre las causas teóricas de resultados falsos que pueden detectarse con este test estarían la enfermedad periodontal (debido a un incremento de la permeabilidad capilar), la ingestión reciente de inhibidores de la bomba de protones o antibióticos (con el consiguiente «aclaramiento» transitorio de la infección gástrica) y la persistencia de una respuesta inmunológica en un paciente sin infección activa (debido a la desaparición espontánea del microorganismo o al tratamiento antibiótico por otra infección no relacionada, o al desarrollo de lesiones como atrofia gástrica y metaplasia intestinal que no pueden ser colonizadas por *H. pylori*)^{10,18-20}. En coincidencia con otros autores^{16,17}, pensamos que los decepcionantes resultados de sensibilidad y valor predictivo negativo de nuestro estudio invalidan al test en saliva fundamentalmente para su uso en el esquema denominado *test and scope* previamente mencionado, ya que su empleo tendría como consecuencia la decisión de no realizar una gastroscopia en un número considerable de pacientes con lesiones gastroduodenales.

Finalmente, la serología «clásica», a partir de sangre venosa, ha alcanzado en nuestro estudio una buena exactitud diagnóstica, tanto en los pacientes ulcerosos como en los voluntarios sanos (tabla 1). La concordancia entre la serología y el test en saliva en los enfermos ulcerosos fue perfecta (kappa, 1), mientras que en los individuos asintomáticos fue pésima (kappa, 0,28) y las prevalencias de infección diagnosticadas con ambas pruebas en este último grupo no fueron homogéneas. La presencia de anticuerpos en saliva podría de-

berse a una producción local por los linfocitos B de la mucosa gástrica, aunque lo más probable es que se trate de un trasudado de la sangre al fluido salival⁹, por lo que generalmente el título de anticuerpos presentes en saliva es inferior al del suero²¹. Esto podría justificar nuestros peores resultados del test en saliva (en comparación con la serología en sangre) en cuanto al diagnóstico de la infección por *H. pylori*, en coincidencia con lo descrito por algunos autores^{11,15,16} pero en desacuerdo con otros^{9,22,23}. Si la explicación para la baja sensibilidad del test en saliva fuera una reducida respuesta inmunológica, por debajo del punto de corte que se precisa para alcanzar un resultado positivo, sería esperable que existiera una elevada concordancia entre ambos métodos basados en la detección de anticuerpos, lo que como hemos visto no ocurre en nuestro estudio.

En resumen, el test diagnóstico de infección por *H. pylori* en saliva posee una deficiente exactitud diagnóstica en los individuos sanos, lo que indica que no es útil para el cribado de la infección en la población asintomática. El valor de esta técnica en los pacientes ulcerosos es mayor, aunque no alcanza los valores de especificidad deseables. Por todo ello, concluimos que el test en saliva evaluado en el presente estudio no puede ser recomendado para realizar el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

Bibliografía

1. Gisbert JP. Revisión crítica de los métodos diagnósticos de infección por *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Hepatol* 2000; 23: 135-143.
2. Gisbert JP, Boixeda D, Redondo C, Álvarez Baleriola I, Jiménez I, Pérez García JI et al. Prueba del aliento para el diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*: concordancia con los métodos histológicos y correlación con las lesiones anatomopatológicas de la mucosa gástrica. *Rev Esp Enferm Dig* 1996; 88: 259-264.
3. Domínguez-Muñoz JE, Leodolter A, Sauerbruch T, Malferteiner P. A citric acid solution is an optimal test drink in the ¹³C-urea breath test for diagnosis of *H. pylori* infection. *Gut* 1997; 40: 459-462.
4. Savarino V, Vigneri S, Celle G. The ¹³C urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1999; 45 (Supl I): 18-22.

5. Landis JR, Koch GC. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33: 159-174.
6. Gisbert JP, Pajares JM. *H. pylori* «test and treat» strategy for dyspeptic patients. *Scand J Gastroenterol* 1999; 7: 644-645.
7. Sobala GM, Crabtree JE, Pentih JT, Rathbone BJ, Shallcross TM, Wyatt JI et al. Screening dyspepsia by serology to *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1991; 338: 94-96.
8. Blaser MJ. *Helicobacter pylori* phenotypes associated with peptic ulceration. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29 (Supl 205): 1-5.
9. Patel P, Mendall MA, Khulusi S, Molineaux N, Levy J, Maxwell JD et al. Salivary antibodies to *Helicobacter pylori*: screening dyspeptic patients before endoscopy. *Lancet* 1994; 344: 511-512.
10. Clancy RL, Cripps AW, Taylor DC. Detection of antibody against *Helicobacter pylori* in the saliva of patients with dyspepsia. *Can J Gastroenterol* 1994; 8: 408-412.
11. Luzza F, Oderda G, Maletta M, Imeneo M, Mesuraca L, Chioboli E et al. Salivary immunoglobulin G assay to diagnose *Helicobacter pylori* infection in children. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3358-3360.
12. De Pascalis R, Del Pezzo M, Nardone G, Budiloon G, Lavitola A. Performance characteristics of an enzyme-linked immunosorbent assay for determining salivary immunoglobulin G response to *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 430-432.
13. Fallone CA, Elizov M, Cleland P, Thompson JA, Wild GE, Lough M et al. Detection of *Helicobacter pylori* infection by saliva IgG testing. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 1145-1149.
14. Reilly TG, Powon V, Sanders DSA, Elliott TSJ, Walt RP. Comparison of serum salivary and rapid whole blood diagnostic salivary and rapid whole blood diagnostic test for *Helicobacter pylori* and their validation against endoscopy based test. *Gut* 1997; 40: 454-458.
15. Christie JML, McNulty CAM, Shepherd NA, Valori RM. Is saliva serology useful for the diagnosis of *Helicobacter pylori*? *Gut* 1996; 39: 27-30.
16. Luzza F, Maletta M, Imeneo M, Marcheggiano A, Iannoni C, Biancone L et al. Salivary-specific immunoglobulin G in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 1820-1823.
17. Simor AE, Lin E, Saibil F, Cohen L, Louie M, Pearen S et al. Evaluation of enzyme immunoassay for detection of salivary antibody to *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 550-553.
18. Perry KR, Perry JV, Mortimer PP, Peters TJ. The influence of dental status on detection of IgG class antiviral antibodies in human saliva. *Arch Oral Biol* 1991; 36: 221-226.

19. Karnes WE Jr, Samloff IM, Siurala M, Kekki M, Sipponen P, Kim SW et al. Positive serum antibody and negative tissue staining for *Helicobacter pylori* in subjects with atrophic body gastritis. *Gastroenterology* 1991; 101: 167-174.
20. Parry JV, Perry KR, Mortimer PP. Sensitive assay for viral antibodies in saliva: an alternative to test on serum. *Lancet* 1987; 2: 72-75.
21. Shillitoe EJ, Lehner T. Immunoglobulins and complement in crevicular fluid, serum and saliva in man. *Arch Oral Biol* 1972; 17: 241-247.
22. Luzza E, Maletta M, Imeneo M, Doldo P, Marasco R, Biancone L et al. Salivary specific IgG is a sensitive indicator of the humoral immune response to *Helicobacter pylori*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1995; 10: 281-284.
23. Luzza F, Imeneo M, Maletta M, Graziano P, Marasco R, Monteleone G et al. Evaluation of a commercial serological kit for detection of salivary immunoglobulin G to *Helicobacter pylori*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 775-777.