

Algengi mótefna gegn *Helicobacter pylori* á Íslandi

Karl G. Kristinsson¹⁾, Erla Sigvaldadóttir¹⁾, Bjarni Þjóðleifsson²⁾

Kristinsson KG, Sigvaldadóttir E, Þjóðleifsson B

The prevalence of *H. pylori* antibodies in Iceland

Læknablaðið 1996; 82: 366–70

Helicobacter pylori causes gastritis and duodenal ulcerations, and is possibly one of the causes of gastric cancer. Diagnosis has relied on gastroscopy, but with the advent of reliable serological tests, epidemiological studies have become easier. Previous studies have indicated a higher *H. pylori* infection rate in Iceland than neighbouring countries. To study this further, an *H. pylori* (acid glycine extract) ELISA test was set up. Serum samples were obtained from 387 individuals, aged three months to 97 years, mean 41 years (161 blood donors, 83 outpatients, 64 ante natal clinic, 33 hospitalised children, 27 old people's home and 19 college students). Positive antibody titers were found in 151 (39%), of which 14 were borderline. The prevalence increased with age and was highest 75% in 60–69 years old, but lowest 9% in the youngest age group. The prevalence of *H. pylori* antibodies appears to be higher than in neighbouring countries, but lower than in the developing countries, and Icelanders appear to acquire the infection at a younger age than in the neighbouring countries. This high prevalence is important in view of the high prevalence of gastric cancer in Iceland.

Frá ¹⁾sýklafræðideild og ²⁾lyflækningadeild Landspítalans. Fyrirspurnir, bréfaskriftir: Karl G. Kristinsson, sýklafræðideild Landspítalans, pósthólf 1465, 121 Reykjavík. Netfang: karl@rsp.is

Lykilorð: *Helicobacter pylori*, serology, epidemiology, gastritis.

Efni greinarinnar hefur áður verið kynnt á XI. þingi Félags íslenskra lyflækna og á sænska læknabpinginu (Riksstæmman).

Ágrip

Helicobacter pylori veldur magabólgu og skeifugarnarsárum, og er mögulega ein af orsökum magakrabbameins. Greining sýkingar hefur venjulega byggst á magaspeglun, en tilkoma nýrra prófa til mótefnaeininga hefur gert faraldsfræðirannsóknir einfaldari. Fyrri rannsóknir hafa bent til hærri tíðni sjúkdómsins á Íslandi en í nágrannalöndunum. Til að afla nánari upplýsinga um algengi og faraldsfræði sjúkdómsins hér á landi var sett upp mótefnapróf, þar sem mótefni í blóði voru mæld með ELISA aðferð. Blóðsýni voru tekin frá 387 einstaklingum á aldrinum þriggja mánaða til 97 ára, meðalaldur 41 ár (161 blóðgjafi, 83 sjúklingar á göngudeild, 64 konur í mæðraeftirliti, 33 börn á Landspítalanum, 27 vistmenn á dvalarheimili aldraðra og 19 menntaskólanemar). Mótefni gegn *H. pylori* greindust hjá 151 (39%), en af þeim voru 14 með lág gildi, vafasvör (borderline). Tíðni mótefna fór vaxandi með hækkandi aldri og var hæst 75% í aldursþópnum 60–69 ára, en lægst 9% í yngsta aldursþópnum. Algengi mótefna virðist meira á Íslandi en í nágrannalöndunum, en minna en í vanþróuðum löndum, jafnframt virðast Íslendingar sýkjast fyrr en tíðkast í nágrannalöndunum. Útbreiðsla *H. pylori* sýkinga á Íslandi hefur sérstaka þýðingu vegna hárrar tíðni magakrabbameins.

Inngangur

Magabakterían *Helicobacter pylori* var fyrst ræktuð og einangruð árið 1984 (1). Þá hófust af alvöru rannsóknir á þætti *H. pylori* í magasjúkdómum, þar á meðal á Íslandi (2,3). Í fyrstu

var ríkjandi sú skoðun að bakterían væri meinaus hluti eðlilegrar örveruflóru og ekki sjúkdómsvaldandi, en nú er ljóst að hún er meginorsök um 95% skeifugarnarsára og 75% magsára og í þeim tilfellum þar sem bakteríunni er eytt úr magslímhúðinni, læknað þessir sjúkdómar (4,5). Jafnframt hefur verið sýnt fram á tengsl bakteríunnar við magakrabbamein (6,7). Þáttur *H. pylori* í óskilgreindum meltingarónotum (non-ulcer dyspepsia) er ekki eins skýr, en einkenni sumra sjúklinga má áreiðanlega rekja til hennar (3). Flestir sem sýkjast af *H. pylori* eru einkennalausir.

H. pylori sýkingu er hægt að greina á vefjasýni sem tekið hefur verið úr magslímhúð, með ræktun, vefjaskoðun og úreasaprófi. Þær rannsóknir sem fram að þessu hafa birst á Íslandi um *H. pylori* sýkingar byggja á þessum aðferðum (2,3). Ennfremur er hægt að greina *H. pylori* með blástursprófi sem byggir á niðurbroti hvarfefnis með úreasa bakteríunnar eins og úreasaprófið (8). Mælingar á mótefnum gegn *H. pylori* hafa verið að þróast á undanförunum árum, en þær gefa möguleika á að greina sýkingar á einfaldan hátt með blóðprófi og henta því einkar vel til faraldsfræðilegra rannsókna.

Rannsóknir á *H. pylori* sýkingum í Íslendingum hafa til þessa byggst á rannsóknum á magslímhúð, að einni undanskilinni þar sem *H. pylori* mótefni voru mæld í 206 einstaklingum (7). Sú rannsókn var fjölþjóðleg á tengslum magakrabbameins við fyrri *H. pylori* sýkingar (mótefni), og kom þar fram að algengi mótefnanna í Íslendingum var herra en í löndum Norður-Evrópu og Bandaríkjunum. Þar sem þessar niðurstöður benda til hærri tíðni *H. pylori* sýkinga hér er mikilvægt að kanna nánar algengi sýkinganna hjá Íslendingum. Þýðing slíkrar rannsóknar er einnig mikilvæg með hliðsjón af hærri tíðni magakrabbameins á Íslandi en í nágrannalöndunum og mögulegum tengslum þess við *H. pylori* sýkingar.

Tilgangur rannsóknarinnar var því að kanna aldurstengt algengi mótefna gegn *H. pylori* hjá Íslendingum og um leið að staðla og aðlaga hvatatengt mótefnapróf (ELISA) að íslenskum aðstæðum.

Efniviður og aðferðir

a) Sýnataka: Blóðsýnum var safnað frá misnunandi einstaklingshópum til að fá fullnægjandi fjölda einstaklinga í alla aldurshópa. Flest

blóðsýnanna voru tekin úr heilbrigðum blóðgjöfum, en einnig voru tekin sýni frá vanfærum konum í mæðravernd, einstaklingum á dvalarheimili fyrir aldraða, fullorðnum einstaklingum sem komu á göngudeild Landspítalans til blóðtöku, börnum á göngudeild og barnadeild Landspítalans (vegna annarra ástæðna en meltingarfærasjúkdóma) og heilbrigðum menntaskólanemum. Blóðvatn var skilið frá blóði samdægurs og geymt við -20°C þar til mótefni voru mæld. Reynt var að fá að minnsta kosti 20 einstaklinga í hvern 10 ára aldurshóp, helst um 30.

b) Mótefnapróf (ELISA): Mótefni gegn *H. pylori* voru ýmist mæld með prófi sem var útbúið á staðnum (heimatilbúið próf), aðkeyptu prófi, Helico-G™ (frá Porton Cambridge, PC, Maidenhead, UK) eða með báðum.

(i) *Helico-G™*: Mælingar voru framkvæmdar eftir fyrirmælum framleiðanda. Mótefnavakinn í því prófi er glýsínseyði bakteríunnar *H. pylori* (acid glycine extract). Aflestur (optical density) sýnis var borinn saman við aflestur staðalsýna og niðurstöður gefnar upp í einingum/ml. Aflestur ≥ 10 einingar/ml taldist jákvæður (mótefni til staðar).

(ii) *Heimatilbúið próf*: Mótefnavakinn var glýsínseyði af *H. pylori* NCTC 11637, og var hann útbúinn á sýkladeild háskólans í Lundi. Aðferðinni við mælinguna hefur áður verið lýst (9), en hún var í stuttu máli eftirfarandi: Styrkur mótefnavakans var stilltur á 5µg prótín/ml með þynningu í buffer (phosphate buffered saline, PBS) og míkrotíter bakkar húðaðir með 100µl lausnar við 4°C yfir nótt. Bakkarnir voru þá þvegnir þrisvar með PBS og síðan húðaðir með 4% nautablóðvatnslausn (bovine serum albumin) í PBS í eina klukkustund við 20°C. Þannig voru bakkarnir tilbúnir til mælinga eða geymslu í -20°C. Eftir þvott var þynntu blóðvatni (1/800 í PBS) bætt í bakkana (100µl) og látið standa við 37°C í 90 mínútur. Öll blóðvatnssýni voru prófuð í tvígang, um leið og neikvæðir og jákvæðir staðlar. Eftir þvotta var bætt í hvatatengdu mótefni (með alkalískum fosfata) gegn manna ónæmisglóbúlíni G (IgG) (1/2000 í PBS) og látið standa í 60 mínútur við 37°C. Eftir þvotta var p-nítrófenýl fosfat hvarfefni bætt í og hvarfið síðar stöðvað með natríum hýdroxíði. Ljósgleypni var þá mæld við 405 nm í ljósgleypnimæli. Ónæmisglóbúlín G var notað sem staðall (KABI AB, Stokkhólmi) og einingar gefnar upp sem hlutfallsleg mót-

efnavirkni (RAA). RAA gildi yfir 35 voru talin jákvæð og gildi undir 25 neikvæð. RAA gildi 25–35 voru skilgreind sem vafasvör (borderline).

Niðurstöður

Tekin voru blóðsýni frá 387 einstaklingum; 161 blóðgjafa í Blóðbanka Íslands, 83 einstaklingum á göngudeild Landspítalans, 64 konum í mæðraeftirliti, 27 einstaklingum á dvalarheimili fyrir aldraða, 33 börnum á Barnaspítala Hringsins og 19 menntaskólanemum. Einstaklingarnir voru á aldrinum þriggja mánaða til 97 ára, en meðalaldur var 41 ár og miðgildi 35 ár.

Hjá 30 einstaklingum voru mót efni mæld með Helico-G™ prófinu, hjá 360 með heimatilbúna prófinu, en aðeins hjá þremur með báðum prófunum. Dreifingu RAA gilda (heimatilbúna prófið) má sjá á mynd 1. Miðgildi var 45 einingar, lægstu og hæstu gildin voru 0 og 146 einingar.

Mót efni gegn *H. pylori* greindust hjá 151 (39%), en af þeim voru 14 með lág gildi, vafasvör (4%). Tíðni mótefna fór vaxandi með hækkandi aldri (tafla og mynd 2). Hæsta tíðni mótefna var 75% í aldurshópnum 60–69 ára og lægsta tíðni 9% í yngsta aldurshópnum. Tilförlulega fá gildi voru vafasvör (4%) og þótt þau séu dregin frá breytir það niðurstöðunum lítið (tafla og mynd 2).

Umræða

Tíðni *H. pylori* mótefna fór vaxandi með aldri og náði hámarki í aldurshópnum 60–69 ára, en féll eftir það. Þetta er í samræmi við aðrar rannsóknir um þetta efni (10–14) sem sýna vaxandi tíðni *H. pylori* mótefna með aldri. Niðurstöður okkar rannsóknar eru ólíkar þeim að því leyti, að tíðni mótefna er hærri í yngri aldurshópnum, en þó ekki eins og hjá vanþróuðum þjóðum þar sem hámarkstíðni er náð um 20–40 ára aldur og fellur eftir fimmtugt. Í þróuðum löndum næst hámarkstíðni um sjötugsaldur, en rannsóknirnar, sem vísað er til hér að framan, náðu ekki til eldri aldurshópa. Í einni rannsókn frá Bandaríkjunum (15), þar sem notað var úreasa blásturspróf og aldurshópar upp að áttræðu kannaðir, var hámarks-tíðnin í elsta aldurshópnum.

Í okkar rannsókn er tíðni mótefna í aldurshópnum 20–50 ára á bilinu 29–35%, sem er töluvert herra en hjá öðrum þróuðum þjóðum, en ekki eins há og hjá vanþróuðu þjóðum,

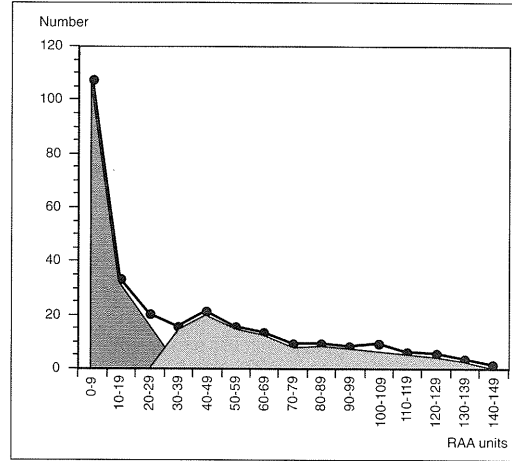


Fig. 1. The distribution of antibody titers measured by the in house *H. pylori* ELISA. The titers are given in RAA. Below the curve is the postulated distribution of RAA values of non-infected (horizontal lines) and infected individuals (vertical lines).

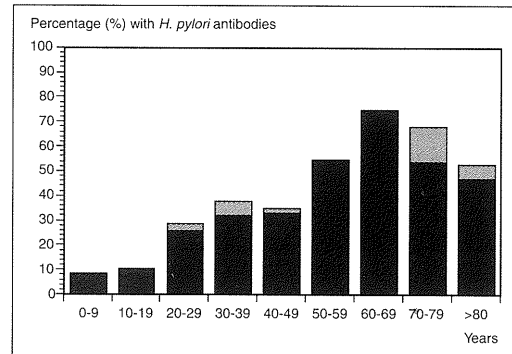


Fig. 2. The percentage of individuals with positive (black) and borderline (grey) *H. pylori* antibody titers, according to age group.

Table. Number of individuals in each age group and the number of individuals considered having positive or borderline *H. pylori* antibody titers.

Age	Number	Positive		Positive borderline	
		N	(%)	N	(%)
0–9	23	2	(9)	2	(9)
10–19	36	4	(11)	4	(11)
20–29	91	24	(26)	26	(29)
30–39	76	24	(32)	29	(38)
40–49	40	13	(33)	14	(35)
50–59	29	16	(55)	16	(55)
60–69	32	24	(75)	24	(75)
70–79	28	15	(54)	19	(68)
> 80	32	15	(47)	17	(53)

Þannig að Ísland sýnir millitíðni miðað við þessar þjóðir. Smitleiðir *H. pylori* sýkinga eru ekki að fullu þekktar og geta verið mismunandi milli þjóða. Í okkar heimshluta er talið að meginsmitleiðin sé frá munni til munns (oral-oral), en í löndum þriðja heimsins kemur sennilega einnig til smit frá hægðum í gegnum óhreint vatn (faecal-oral), en almennt virðist *H. pylori* smit hjá ungu fólki fylgja fátækt og óþrifnaði. Við þessi skilyrði eru flestir sem á annað borð eru móttækilegir fyrir smiti sýktir um og upp úr tvítugu. Náttúrlegur gangur *H. pylori* sýkingar virðist vera sá að flestir sýkjast án einkenna. Allir fá magabólgu af gerð B sem eftir nokkra áratugi leiðir til rýrnunar á magaslímhúð (atrophic gastritis), en við það ástand hverfur *H. pylori* sýkingin af sjálfu sér (16), þá hverfur ónæmissvarið væntanlega líka á nokkrum árum. Í ljósi þessa er athyglisvert að í okkar rannsókn komu ónæmissvör með jaðargildum (intermediate response) nær eingöngu fyrir í aldurshópnum 20–40 ára og yfir 70 ára. Þetta eru þeir aldurshópar á Íslandi sem annað hvort eru að mynda svar eða missa það. Þegar *H. pylori* er útrýmt úr magaslímhúð með lyfjameðferð tekur það um eitt ár fyrir ónæmisglóbúlín G mótefni í blóðvatni að lækka um 50% (17).

Óvíst er hvers vegna Íslendingar sýkjast fyrir á ævinni en íbúar í nágrannalöndunum. Ekki er líklegt að fátækt og óþrifnaði sé um að kenna, þar sem afkoma hér er svipuð og á hinum Norðurlöndunum, og tíðni mótefna gegn lifrabólguveiru A (sem oft tengist óþrifnaði og fátækt) er síst hærrí hér en annars staðar í Norður-Evrópu (1,6% í einstaklingum undir 20 ára aldri) (18). Mögulega er skýringuna að finna í því að Íslendingar hafa haft aðrar matarvenjur og stærrí fjölskyldur en þekkt í nágrannalöndunum. Ekki er þó útilokað að slæmar aðstæður hafi áður fyrir haft meira að segja hérlendis, og leiða má getum að því að fyrir á öldinni hafi *H. pylori* sýking verið ennþá útbreiddari en hún er nú, þar sem algengi mótefna gegn lifrabólguveiru A í framangreindri rannsókn var 69% í aldurshópnum eldri en 60 ára (18).

Útbreiðsla *H. pylori* sýkinga á Íslandi hefur sérstaka þýðingu vegna hárrar tíðni magakrabbameins. *H. pylori* sýking er nú talin einn af áhættuþáttum fyrir magakrabbameini. Correa (19) hefur sett fram tilgátu um hlutverk *H. pylori* sýkingar í myndun magakrabbameins og

er megininntak hennar að *H. pylori* valdi þrálátri magabólgu sem leiði til rýrnunar (atrophy) á magaslímhúð og misvexti (dysplasy). Því fyrir á ævinni sem sýkingin verður þeim mun meiri hætta er á magakrabbameini. Tilgátan er studd af afturskyggnum (20,21) og faraldsfræðilegum rannsóknum (7, 22–25). Ennfremur hefur verið sýnt fram á að *H. pylori* sýking í maga lækkar C vítamín í magasafa (26). Rannsóknir Níelsar Dungal og Júlíusar Sigurjónssonar á mataræði Íslendinga á árunum 1940–1950 sýndu, að verulega skorti á neyslu C vítamíns (27–29) sem gæti annars hafa haft verndandi áhrif.

Mæling í blóðvatni á mótefnum gegn *H. pylori* hefur sýnt sig að vera nægjanlega nákvæm og sértæk til faraldsfræðilegra rannsókna og klínískra nota (30,31). Í okkar rannsókn voru notaðir tvenns konar mótefnavakar, báðir staðlaðir í þeim löndum sem þeir voru fengnir frá, það er Bretlandi og Svíþjóð. Prófin tvö voru ekki gerð á nægjanlega mörgum einstaklingum til að hægt væri að kanna samsvörun prófanna, en það hefur áður verið gert við mælingar hjá öðrum einstaklingum og reyndist samsvörunin vera mjög góð (KGK, óbirtar niðurstöður). Niðurstöðurnar fyrir dreifingu RAA gildanna (mynd 1) benda til þess að þeir sem hafa ekki myndað mótefni eða séu að tapa þeim, hafi gildi undir 35–40, en aðrir hafi gildi yfir 25. Þetta er í fullu samræmi við mótefnamælingar með þessu prófi á sannanlega sýktum og ósýktum einstaklingum (9). Prófið hefur einnig verið borið saman við tilbúin próf á markaðnum og reynst vera fyllilega sambærilegt (32).

Mótefnamælingarnar eru gagnlegar til að kanna útbreiðslu *H. pylori* sýkinga og aldurstengt algengi. Nýlegar rannsóknir hafa ennfremur bent til þess að þær kunni að vera gagnlegar til að meta árangur meðferðar, en í þeim tilfellum þar sem sýklalyfjameðferð nær að útrýma bakteríunni úr magaslímhúðinni lækkar mótefnatíterinn marktækt. Mæling á *H. pylori* mótefnum er nú orðin ein af þeim rannsóknum sem læknum stendur til boða til klínískra nota á sýklafræðideild Landspítalans.

Algengi mótefna gegn *H. pylori* virðist meira á Íslandi en í nágrannalöndunum, en minna en í vanþróuðum löndum, jafnframt virðast Íslendingar sýkjast fyrir en tíðkast í nágrannalöndunum. Útbreiðsla *H. pylori* sýkinga á Íslandi hefur sérstaka þýðingu vegna

hárrar tíðni magakrabbameins. Áhugavert væri að skoða faraldsfræði *H. pylori* sýkinga nánar með tilliti til landfræðilegrar útbreiðslu.

Þakkarorð

Þakkir til þeirra fjölmörgu sem aðstoðuðu við söfnun blóðsýnanna.

HEIMILDIR

- Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; i: 1311-5.
- Jóhannsson JH, Harðardóttir H, Sigvaldadóttir E, Kristjánsdóttir S, Þjóðleifsson B, Oddsson E, et al. *Campylobacter pylori* í magaslímhúð. Framvirk rannsókn á algengi *C. pylori* í magaslímhúð sjúklinga með einkennum um bólgu eða sár í maga. *Læknablaðið* 1989; 75: 191-6.
- Oddsson E, Guðjonsson H, Theodors Á, Björnsson S, Gunnlaugsson Ó, Gormsen M, et al. De-Nol or De-Nol + Metronidazole in the treatment of *Helicobacter pylori* positive patients with non ulcer dyspepsia: symptomatic response and eradication rate. *Gastroenterology* 1992; 102/Suppl. 4: A137.
- Moss S, Calam J. *Helicobacter pylori* and peptic ulcers. The present position. *Gut* 1992; 33: 289-91.
- Graham DY. *Campylobacter pylori* and peptic ulcer disease. *Gastroenterology* 1989; 96: 615-25.
- Correa P, Fox J, Fontham E, Ruiz B, Lin Y, Zavala D. *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma. Serum antibody prevalence in population with contrasting cancer risk. *Cancer* 1990; 66: 2569-74.
- The Eurogast Study Group. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet* 1993; 341: 1359-62.
- Mc-Nulty CAM, Wise R. Rapid diagnosis of *Campylobacter pyloridis* gastritis. *Lancet* 1986; i: 387.
- Lelwala-Guruge J, Schalén C, Nilsson I, Ljungh Å, Tyszkiewicz T, Wikander M. Detection of antibodies to *Helicobacter pylori* cell surface antigens. *Scand J Infect Dis* 1990; 22: 457-65.
- Dooley CP, Cohen H, Fitzgibbons PL, Bauer M, Appleman D, Perez-Perez GI, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. *N Engl J Med* 1989; 321: 1562-6.
- Megraud F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, Belbourni A, Hoa DQ. Seroepidemiology of *Campylobacter pylori* infection in various populations. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1870-3.
- Kosunen TV, Hook J, Rautelen HI, Mylly G. Age dependent increase of *Campylobacter pylori* antibodies in blood donors. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 110-4.
- Mitchell HM, Lee A, Berkowicz J, Borody T. The use of serology to diagnose active *Campylobacter pylori* infection. *Med J Aust* 1988; 149: 604-9.
- Perez-Perez GI, Taylor DN, Bodhidatta L, Wongsrichanalai J, Baze WB, Dunn BE, et al. Seroprevalence of *Campylobacter pylori* infections in Thailand. *J Infect Dis* 1990; 161: 1237-41.
- Graham DY, Klein PD, Opekum AR, Boutton TW. Effect of age on the frequency of active *Campylobacter pylori* infection diagnosed by the urea breath test on normal subjects and patients with peptic ulcer disease. *J Infect Dis* 1988; 157: 773-80.
- Kekki M, Siurala M, Varis K, Sipponen P, Sistonen P, Nevanlinna HR. Chronic gastritis: dynamic and clinical aspects. *Scand J Gastroenterol* 1987; 22/Suppl. 141: 1-28.
- Kosunen TV, Seppala K, Sarna S, Sipponen P. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titers after eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1992; 339: 893-5.
- Briem H, Weiland O, Friðriksson I, Berg R. Prevalence of antibody to hepatitis in Iceland in relation to age, sex, and number of notified cases of hepatitis. *Am J Epidemiol* 1982; 116: 451-5.
- Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48: 3554-60.
- Forman D, Newell DG, Fullerton F, Yarnell JW, Stacey AR, Wald N, et al. Association between infection with *Helicobacter pylori* and risk of gastric cancer. *Br Med J* 1991; 302: 1302-5.
- Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelstein JH, Orentreich N, et al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1127-31.
- Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kate I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 1991; 325: 1132-6.
- Forman D, Sitas F, Newell DG, Stacey AR, Boreham J, Peto R, et al. Geographic association of *Helicobacter pylori* antibody prevalence and gastric cancer mortality in rural China. *Int J Cancer* 1990; 46: 608-11.
- Fox JG, Correa P, Taylor NS, Zavala D, Fontham E, Janney F, et al. *Campylobacter pylori* associated gastritis and immune response in a population at an increased risk of gastric carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 775-81.
- Gastrointestinal Physiology Working Group. *Helicobacter pylori* and gastritis in Peruvian patients: relationship to socioeconomic level, age and sex. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 819-23.
- Axon ATR. The ascorbic acid story. In: Hunt RH, Tytgat GNJ, eds. *Helicobacter pylori*: basic mechanisms to clinical cure. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, 1994.
- Dungal N. The special problem of stomach cancer in Iceland. *JAMA* 1961; 178: 789-98.
- Sigurjónsson J. Geographical variation in mortality from cancer in Iceland, with particular reference to stomach cancer. *J Nat Cancer Inst* 1966; 37: 337-46.
- Dungal N, Sigurjónsson J. Gastric cancer and diet. A pilot study on dietary habits in two districts differing markedly in respect of mortality from gastric cancer. *Br J Cancer* 1967; 21: 270-6.
- Perez-Perez GI, Dworken BM, Chodos JE, Blaser MJ. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Ann Intern Med* 1988; 109: 11-7.
- De Giacomo C, Fiocca R, Villani L, Lisato L, Licardi G, Diegoli N, et al. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastritis: clinical, serological and histologic correlations in children treated with amoxicillin and colloidal bismut subcitrate. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990; 11: 310-6.
- Lelwala-Guruge J, Nilsson I, Ljungh Å, Wadström T. Cell surface proteins of *Helicobacter pylori* as antigens in an ELISA and a comparison with three commercial ELISAs. *Scand J Infect Dis* 1992; 24: 457-65.