

HELICOBACTER PYLORI TANISINDA HİSTOLOJİK VE MİKROBİYOLOJİK ARAŞTIRMA YÖNTEMLERİ

Korhan TAVİLOĞLU¹, Ali AKYÜZ¹, Mine Anğ KÜÇÜKER²,
Yılmaz BÜYÜKUNCU¹, Dursun BUĞRA¹, Özden ÖZMUTLU², Özdem ANĞ³

ÖZET

Kasım 1989 ve Temmuz 1991 tarihleri arasında, üst gastrointestinal sistemin endoskopik tetkiki amacı ile başvuran hastaların 104'ünde *H.pylori* insidansı araştırılmıştır. Her hastanın mide antrum bölgesinden dört adet biopsi örneği alınmıştır. Bunlardan ikisi ışık mikroskobu ile tetkik, biri üreaz testi ve biri de kültür için kullanılmıştır. Elektron mikroskopisi ile tetkik yapılan beş olguda, ek olarak bir örnek daha alınmıştır. Olguların 41'inde gastrit, 30'unda duodenal ülser (DU), 27'sinde nonülser dispepsisi (NUD) ve 6'sında mide karsinomu (CA) belirlenmiştir. 58 olguda (% 55.8) histolojik olarak bakteri varlığına rastlanmıştır. Olguların 60'ı (% 57.7) kültür pozitif, 67'si (% 64.4) üreaz pozitif sonuç vermiştir. Duyarlık oranı histolojik tetkikte % 96.7, üreaz testinde % 100; özgüllük oranı ise histolojik tetkik için % 100, üreaz testi için % 89.5 olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, *H.pylori*'nin belirlenmesinde histolojik inceleme ve üreaz testi etkinlikleri açısından karşılaştırılmış ve aralarında belirgin bir farklılık saptanmamıştır.

SUMMARY

Histological and microbiological investigation methods for Helicobacter pylori.

The incidence of *H.pylori* was searched in 104 patients, who were admitted for upper GI tract endoscopic examination between November 1989 and July 1991. Four biopsy specimens were obtained from the gastric antrum of every patient. Two of these were used for histological examination (light microscope), the third for the urease test and the last one for the microbiological examination. In five cases that were searched under the electron microscope, an additional specimen was obtained. The histological results were; gastritis in 41 cases, duodenal ulcer (DU) in 30 cases, nonulcer dispepsia (NUD) in 27 cases, and gastric carcinoma (CA) in 6 cases. 58 cases (55.8 %) were found to be histologically positive for the bacteria. 60 cases (57.7 %) were culture positive and 67 cases (64.4 %) were urease positive. The sensitivity rate was found to be 96.7 % for the histological examination and 100 % for the urease test. The specificity rate was 100 % for the histological examination and 89.5 % for the urease test. In conclusion, histologic diagnosis and the urease test were compared in the determination of *H.pylori*, and no significant difference was noticed between the two methods.

7. Türk Antibiyotik ve Kemoterapi (ANKEM) Kongresinde sunulmuştur (31 Mayıs-5 Haziran 1992, Kuşadası).

1. İstanbul Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

2. İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi, Genel Biyoloji Anabilim Dalı, Beyazıt, İstanbul.

3. İstanbul Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Çapa, İstanbul.

GİRİŞ

1983 yılında Batı Avustralya'da Warren ve Marshall (54) tarafından gastrit ve peptik ülserli kişilerde *Campylobacter* benzeri bir bakterinin izole edilmesi sonrasında bu alanda önemli bir aşama kaydedilmiştir. Önceleri *Campylobacter pylori* adı ile anılan bu bakterinin RNA yapısı çalışmaları sonrasında *Campylobacter* genusunda yer alamayacağına karar verilmiştir (27, 46). Sonraları *Wolinella* genusuna benzetilmiş ve 1989 yılında *Helicobacter pylori* adı konulmuştur (13).

H.pylori sporsuz, S şeklinde, hareketli, künt ve yuvarlak uçlu, Gram negatif bir çomak olup, 4 ile 6 unipolar kılıflı kirpiğe sahiptir. Diğer *Campylobacter*'lerin ise, her polde bir kirpiği vardır. Organizmanın 0.5-1µm genişliğinde, 2.5-4 µm boyunda, 0.9-1.2 µm dalga boyunda olduğu tanımlanmıştır (4, 11, 12, 16, 23, 42, 56).

GEREÇ VE YÖNTEM

İstanbul Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Cerrahi Gastroenteroloji ve Proktoloji Endoskopi Ünitesine, Kasım 1989 ve Temmuz 1991 tarihleri arasında, üst gastrointestinal sistemin endoskopik tetkiki amacı ile başvuran hastaların 104'ünde *H.pylori* insidansı araştırılmıştır. 63'ü (% 61) erkek ve 41'i (% 39) kadın olan olguların ortalama yaşı 43.5 (20-73) olarak belirlenmiştir.

Endoskopik biopsiler, bir gece açlığı takiben Olympus GIF XQ 10 Olympus ve GIF 1T 20 fleksibl endoskopları ile alınmıştır. Biopsi forsepsleri her tetkik sonrasında 30 dakika süre ile dimetoksi-tetrahidrofuran ve formaldehit bileşimi (Gigasept-Schülke Mayr GmbH) ile sterilize edilip steril su ile durulanmıştır. Her hastanın mide antrumundan dört adet biopsi örneği steril forsepsler ile alınmıştır. Bu örneklerden ikisi % 10 tamponlu formalin içine konularak ışık mikroskobu ile tetkik için, üçüncüsü Christensen'in üreli besiyerine üreaz testi ve sonuncusu transport besiyerine kültür için alınmıştır. Işık mikroskobu için alınan örneklerden birinde bakteri pozitifliği araştırılmış, diğerinde ise histopatolojik tetkik yapılmıştır. Gastritli olgular Marshall ve Warren'ın (30) bildirdiği kriterlere göre değerlendirilmiştir. EM tetkiki için: dokular fosfat tamponda (pH 7.2) hazırlanan %3.5'lük glutraldehit içine alınmış ve Zeiss 9S2 ve Jeol Cx-100 elektron mikroskopları kullanılmıştır.

Kültür için AMIES (Biolife Inc.) *H.pylori* transport besiyeri kullanılmış ve en geç iki saat içinde *Campylobacter* agar besiyerine (Difco Lab.), tüm bölgelere eşit oranda dağılımı sağlayacak şekilde ekim yapılmıştır. Petri kutuları anaerob kavanozda saklanmış ve mikroaerofil ortamı sağlamak için CO₂ generating Kit (Merck Co.) kullanılmıştır. Örnekler bu koşullarda 7 gün boyunca 37°C'de bekletilmiştir. Bu süre sonunda besiyeri yüzeyinde 1-2 mm çaplı, saydam, konveks görünümdeki kolonilerden hazırlanarak Gram yöntemiyle boyanan preparatlarda Gram negatif, kıvrık, çomak şeklindeki bakteriler gözlenmeye çalışılmıştır.

BULGULAR

Histolojik bulgular

104 hastanın 41'inde gastrit, 30'unda DU, 27'sinde NUD ve 6'sında CA belirlenmiştir. Gastritli 41 olgunun 31'i (% 75.6) kronik ve 10'u (% 24.4) aktif gastrit olarak değerlendirilmiştir. Kronik olguların onikisi Grade 0, dokuzu Grade 1, sekizi Grade 2 ve ikisi Grade 3 olarak belirlenmiştir. 10 aktif gastritli olguda ise dört olgu Grade 0, bir olgu Grade 1, iki olgu Grade 2 ve üç olgu Grade 3 olmuştur. Bakteri

varlığı CA'lı olguların %66.7'sinde, gastritli olguların % 63.4'ünde, DU'li olguların % 60'ında ve NUD'li olguların % 37'sinde belirlenmiştir (Tablo 1). Duyarlık oranı %96.7 ve özgüllük oranı % 100 olarak bulunmuştur.

Tablo 1. Histolojik sonuçlar ve *H.pylori* pozitifliği.

Histolojik bulgu Olgu	n	Bakteri (+)		Üreaz (+)		Kültür (+)	
		n	%	n	%	n	%
NUD	27	10	37.0	11	40.7	10	37.0
Gastrit	41	26	63.4	29	70.7	27	65.9
DU	30	18	60.0	23	76.7	19	63.3
CA	6	4	66.7	4	66.7	4	66.7
Toplam	104	58	55.8	67	64.4	60	57.7

Elektron mikroskopisi bulguları

Beş olguda yapılan ince yapısal incelemelerde, 0.5-1x2.5-4 µm boyutlarında, kıvrık, spiral veya çomak şeklinde hücreler gözlenmiştir. Bakterinin hücre duvarlarının dış yüzeyinin düzgün olduğu ve konak hücrenin sitoplazma zarı ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bakterinin kılıflı kirpikleri, kesitler farklı düzlemlerden geçtiği için, bakteri hücreleri etrafında izlenebilmiştir. Oldukça homojen görümlü bakteri sitoplazmasında ribozomlar, nükleer fibrilli materyel ve yoğun inklüzyon granülleri saptanmıştır.

Müküs salgılayan epitel hücrelerinde bakterinin yapışmasına bağlı olarak mikrovillularda bozulma, müküs granüllerinin içeriğinde azalma ve bazı granüller arasında *H.pylori*'ye benzer yapılar görülmüştür. Bakteri hücrelerinin hücrelerarası bağlantı bölgelerinin bir kısmının derinliğine doğru penetre olarak, lateral hücre membranı boyunca bu bölgelerin içine girdikleri saptanmıştır. Ayrıca, az yoğun bir bölgenin ortasında yoğunluğu fazla olan farklı bir bölge izlenmiştir.

Kültür sonuçları

Kültür 60 olguda (% 57.7) pozitif, 38 olguda (% 36.5) negatif sonuç vermiştir. 6 olgu (% 5.8) ise kontamine olduğundan değerlendirilememiştir (Tablo 1).

Üreaz deneyi

67 olguda (% 64.4) üreaz testi pozitif olarak belirlenmiştir. Üreaz pozitif olan 67 olgunun, 62'sinde (% 92.5) ilk bir saatte ve 67'sinde (% 100) ilk üç saatte pozitif sonuç elde edilmiştir (besiyeri sarıdan pembe renge dönüşmüştür). Bir NUD'li ve bir DU'li olguda üreaz testi negatif iken bakteriyi göstermek mümkün olmuştur. Üreaz pozitifliği NUD olgularında % 40.7, gastrit olgularında % 70.7, DU olgularında % 76.7, mide kansinomu olgularında % 66.7 olmuştur (Tablo 1). Üreaz pozitif olguların tümü oksidaz ve katalaz için de pozitif bulunmuştur. Üreaz testi için duyarlık oranı % 100 ve özgüllük oranı % 89.5 olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızdaki istatistiksel değerlerin tümü kültür sonuçları kriter alınarak elde edildiğinden, kültür sonuçlarını karşılaştırabileceğimiz bir kriter bulunamamıştır. Bu nedenle, kültür sonuçlarımıza ait istatistiksel değerler sonuçlar arasında yer almamaktadır.

TARTIŞMA

H.pylori, önemi bilinmeyen birçok enzim ve toksin salgılamakta, ancak bunlardan sadece ikisi klinikte değer kazanmaktadır (21). Mide asidi tarafından kolaylıkla eritilmesine karşın, bol miktarda üre amidohidrolaz (ürez) salgılayan *H.pylori*'nin böylece Na^+/K^+ -ATPaz pompasını etkileyerek ATP'yi azalttığı, çevre ortamı alkali hale getirdiği ve mukozada hasara neden olduğu sık olarak kabul edilen bir görüştür (18, 19, 20, 21, 43). Ayrıca, kişinin müküs-bikarbonat bariyerini zayıflatan ve mukozanın altına yerleşen, mûsin eritici bir proteaz salgıladığı bilinmektedir (21, 49). Bu enzimler mide epiteli ile organizma ilişkilerinden sorumlu tutulmaktadır (38). Bu özelliklerin organizmanın ülser nişi üzerindeki müküs örtüsü üzerine tirbüşon gibi hareket etmesine yol açtığı ifade edilmektedir (21, 49). Midede fundus, korpus ve antrumda, duodenumda ise bulbus duodenide müküs tabakası altında ve epitelyal hücrelere yakın olarak yer aldıkları gösterilmiştir. Böylece, nötrale yakın ortamda yaşayarak bakterisidal mide sıvısından korundukları belirtilmektedir (2, 21, 25, 30).

H.pylori kolonizasyonu ile doğru orantılı olarak gastrit şiddetinin arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (24, 30, 35, 41, 47, 50). Çalışmamızda olguların % 75.6'sı kronik ve % 24.4'ü aktif gastritli olarak belirlenmiştir. Bakteri pozitifliği yönünden aktif gastritli olgularda daha yüksek Grade'li sonuçlar alınmıştır. Bu bulgular Marshall ve Warren'ın (30) sonuçları ile uyumludur.

H.pylori'nin ırk, ülke ve meslek gruplarına göre dağılımı çeşitli araştırmacıların ilgisini çekmiştir (17, 35, 36, 40, 51, 52). Bütün bu çalışmaların ortak bulgusu, *H.pylori* insidansının sosyoekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha fazla olmasıdır. Mitchell ve ark. (36)'nın çalışmasında da endoskopi personeline *H.pylori* sıklığının arttığı belirlenmiştir 104 olguluk çalışma grubumuzda, bakteri pozitifliği % 55.8 olarak belirlenmiştir. Tablo 2'de, sonuçlarımız çeşitli ülkelerdeki *H.pylori* insidansı ile karşılaştırılmıştır.

Tablo 2. Değişik toplumlarda *H.pylori* sıklığı.

Yazar adı ve kaynak No	Ülke	H.pylori pozitifliği oranı					
		Gastrit		DU		Normal	
		n*	%	n*	%	n*	%
Marshall ve Warren (30)	Avustralya	55	41	100	13	58	16
Marshall ve ark (28)	Avustralya	-	-	17	88	49	57
Goodwin ve ark (15)	Avustralya	51	92	-	-	16	6
Langenberg ve ark (24)	Hollanda	35	89	7	57	69	61
Rauws ve ark (44)	Hollanda	233	77	36	100	34	21
McNulty ve Watson (35)	İngiltere	62	76	20	95	55	42
Price ve ark (42)	İngiltere	38	71	17	80	14	36
Buck ve ark (5)	ABD	39	69	-	-	-	-
Fitzgibbons ve ark (9)	ABD	116	31	-	-	-	-
Fox ve ark (10)	ABD	169	71	-	-	-	-
Malferteiner ve ark (26)	Almanya	21	95	-	-	-	-
Stolte ve ark (50)	Almanya	2666	81	817	94	1390	73
Jiang ve ark (22)	Çin	57	78	14	85	15	20
Perez-Perez ve ark (40)	Tayland	15	60	-	-	-	-
Bu çalışma	Türkiye	41	63	30	60	-	-

*= çalışma grubunun olgu sayısı

Histolojik araştırma

H.pylori'yi belirlemede değişik boyama yöntemleri kullanılmaktadır (4, 11, 15, 32, 48, 53, 54). Gram boyama ile % 65-90 duyarlık ve % 100 özgüllük oranları bildirilmektedir (4, 15, 53). Simor ve ark. (48)'nin çalışmasında Gram yöntemi ile % 72 duyarlık, % 100 özgüllük ve Giemsa yöntemi ile % 79 duyarlık, % 97 özgüllük oranlarından bahsedilmektedir. Çalışmamızda, Giemsa yöntemi ile % 96.7 duyarlık ve % 100 özgüllük elde edilmiştir.

Elektron mikroskopisi

Doku kesitlerinde kıvrık veya spiral bir çomak şeklinde bulunan bakterinin, invitro kültürden hazırlanan preparatlarda at nalı şeklini alabildiği gösterilmiştir (4, 12). Çalışmamızda da ışık ve EM tetkiklerinde kıvrık ve spiral şekilde gözlenen *H.pylori*'nin, kültürden hazırlanan preparatlarda daha uzun ve ince, at nalı şeklinde ya da dairesel olabildiği saptanmıştır.

EM çalışmalarında *Campylobacter* cinsine ait bakteriler, hücre yüzeyleri düzgün olmayan ve künt olarak sonlanan şekilde izlenmektedir. Buna karşın, *H.pylori*'nin hücre duvarlarının dış yüzeyinin düzgün ve konak hücre sitoplazma zarı ile yakın ilişkide olduğu belirtilmektedir (12, 13, 16). Çalışmamızda bu ilişki gösterilmiştir. Az yoğun bir bölgenin ortasında daha yoğun olarak gözlediğimiz kesimlerin ve "pedestal oluşum"un, büyük bir olasılıkla Goodwin ve ark. (12) tarafından belirtilen metallo-protein kompleksi olduğu düşünülmüştür. Hücre duvarını çevreleyen glikokaliks ile konak epitel hücrelerinin glikokaliksini, bakterinin konak epitel hücrelerine yapıştığı bölgede yoğun bir ilişki içinde olduğu gözlenmiştir. Bu bulgu literatür verileri ile uyumludur (12).

H.pylori'nin hücre içi invazyonuna ait bulgular tartışmalıdır. Bazı araştırmacılar, bakteri invazyonuna ait fazla ve kesin kanıt olmadığını ileri sürerken (2, 4, 12), Dooley ve Cohen (8) *H.pylori*'nin invaziv karakterde bir bakteri olduğunu ileri sürmüşlerdir. Çalışmamızda, lökositler içinde fagosite edilmiş bakteri hücreleri gözlenememiş olmasına rağmen müküs hücreleri granülleri arasında *H.pylori*'ye benzer yapılar dikkati çekmiştir. Çalışmamızda ve bugüne dek yapılan diğer çalışmalarda (2, 4, 12), bakterinin hücrelerarası alana penetre olabildiği, fakat bazal laminaya penetre olmadığı gösterilmiştir. Bu bulguların aksine Andersen ve Holck (1) immuno-histokimyasal yöntemlerle midede yerleşen bakterilerden bir kısmının lamina propriaya penetre olabileceklerini göstermişlerdir.

Kültür

H.pylori koyun kanlı agar, beygir kanlı agar, çikolatalı agar, Columbia besiyeri, Skirrow besiyeri ve Thayer-Martin besiyerinde 3-7 gün içinde üretilebilmektedir. Brusella agarı veya beyin-kalp infüzyon agarında, kan, serum, çözülebilen nişasta, ya da aktif karbon ile zenginleştirilmediği takdirde ürememektedir (5, 6, 15, 29, 42, 54). Üremesi için mikroaerofil ortama gereksinim olduğu belirtilmektedir (6, 12, 29, 54). Çalışmamızda koyun kanı, vankomisin ve trimetoprim ile zenginleştirilmiş *Campylobacter* agar besiyeri mikroaerofil koşullarda kullanılmıştır.

Gastrit ve DU olgularında % 70-100 (5, 11, 14, 26, 28), kanserli olgularda % 21-80 (5, 9, 10, 22, 28), NUD ve mide ülserli olgularda % 50-70 (5, 28, 44) oranında *H.pylori* varlığı gösterilmiştir. Çalışmamızda ise benzer olarak, gastrit varlığında % 65.9, duodenal ülserde % 63.3, NUD'de % 37 ve kanserli olgularda % 66.7 oranında kültür pozitifliği saptanmıştır (Tablo 1).

Üreaz testi

Üreazın bol miktarda salgılanması, indirekt olarak *H.pylori*'nin hızlı bir şekilde üretilmesine olanak sağlamaktadır (3, 4, 7, 11, 12, 18, 19, 20, 31, 33, 34, 37, 39, 43, 45, 48, 55, 56). Bunu göz önüne alan değişik araştırmacılar (34, 39) Christensen'in üreli besiyerini kullanmışlardır. Son yıllarda % 90-100 duyarlık ile % 97-100 özgüllük oranları içeren, üre ve pH indikatöründen oluşan bir jel olan CLO-test ve ¹³C ve ¹⁴C solunum testleri yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (3, 7, 18, 31).

Çalışmamızda, Christensen'in üreli besiyeri ile % 64.4 olguda pozitif sonuç alınmıştır (Tablo 1). Bu olguların, bir saat sonunda % 92.5'u ve üç saatte tümü pozitif olmuştur. İlk üç saat içinde negatif sonuç veren örneklerde 24 saate kadar beklendiğinde pozitif hale gelen olmamıştır. Bu test ile pozitif sonuç elde edilmesinde Simor ve ark. (48)'nin bulgularına benzer şekilde, üç saat yeterli olmuştur. Bu testin duyarlık oranı % 100 ve özgüllük oranı % 89.5 olmuştur. *H.pylori* için üreaz testinin pozitif olduğu olgularda oksidaz ve katalaz reaksiyonlarının da pozitif sonuç verdiği bilinmektedir (4, 6, 12, 29). Çalışmamızda da üreaz pozitif olan olguların hepsi, katalaz ve oksidaz için de pozitif sonuç vermiştir.

SONUÇLAR

Dispeptik yakınmalar nedeni ile endoskopik incelemeleri yapılan 104 hastanın % 55.8'inde histolojik olarak *H.pylori* varlığına rastlanmıştır. Olguların % 57.7'sinde kültür pozitifliği ve % 64.4'ünde üreaz pozitifliği elde edilmiştir. Kültür sonuçları temel alınarak yapılan araştırmalarda, histolojik tetkikte % 96.7 ve üreaz testinde % 100 duyarlık oranları bulunmuştur. Özgüllük oranları ise histolojik tetkik için % 100 ve üreaz testi için % 89.5 olmuştur. Bu sonuçlar literatür verileri ile uyumludur. Sonuç olarak, *H.pylori*'nin belirlenmesinde; histolojik inceleme ve üreaz testi etkinlikleri açısından karşılaştırılmış ve aralarında belirgin bir farklılık saptanmamıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Andersen L P, Holck S: Possible evidence of invasiveness of *Helicobacter* (*Campylobacter*) *pylori*, *Eur J Clin Microbiol* 9: 135 (1990).
- 2- Barthel J S, Westblom T U, Havey A D, Gonzalez F, Everett E D: Gastritis and *Campylobacter pylori* in healthy, asymptomatic volunteers, *Arch Int Med* 148: 1149 (1988).
- 3- Borromeo M, Lambert J R, Pinkard K J: Evaluation of "CLO test" to detect *Campylobacter pyloridis* in gastric mucosa, *J Clin Pathol* 40: 462 (1987).
- 4- Buck G E: *Campylobacter pylori* and gastroduodenal disease, *Clin Microbiol Rev* 3: 1 (1990).
- 5- Buck G E,* Gourley W K, Lee W K, Subramanyam K, Latimer J M, Dinuzzo A R: Relation of *Campylobacter pyloridis* to gastritis and peptic ulcer, *J Infect Dis* 153: 664 (1986).
- 6- Buck G E, Smith J S: Medium supplementation for growth of *Campylobacter pyloridis*, *J Clin Microbiol* 25: 597 (1987).
- 7- Czinn S J, Carr H: Rapid diagnosis of *Campylobacter pyloridis*-associated gastritis, *J Pediatr* 110: 569 (1987).

- 8- Dooley C P, Cohen H: The clinical significance of *Campylobacter pylori*, *Ann Int Med* 108: 70 (1988).
- 9- Fitzgibbons P L, Dooley C P, Cohen H, Appleman M D: Prevalence of gastric metaplasia, inflammation, and *Campylobacter pylori* in the duodenum of members of a normal population, *Am J Clin Pathol* 90: 711 (1988).
- 10- Fox J G, Correa P, Taylor N S, Zavala D, Fontham E, Janney F, Rodriguez E, Hunter F, Diavolitis S: *Campylobacter pylori*-associated gastritis and immune response in a population at increased risk of gastric carcinoma, *Am J Gastroenterol* 84: 775 (1989).
- 11- Fung W P, Papadimitriou J M, Matz L R: Endoscopic, histological and ultrastructural correlations in chronic gastritis, *Am J Gastroenterol* 71: 269 (1979).
- 12- Goodwin C S, Armstrong J A: Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*), *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 9: 1 (1990).
- 13- Goodwin C S, Armstrong J A, Chilvers T, Peters M D, Collins M D, Sly L, McConnell W, Harper W E S: Transfer of *Campylobacter pyloridis* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively, *Int J Syst Bacteriol* 39: 397 (1989).
- 14- Goodwin C S, Armstrong J A, Marshall B J: *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration, *J Clin Pathol* 39: 353 (1986).
- 15- Goodwin C S, Blinco E D, Warren J R, Waters T E, Sanderson C R, Easton L: Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa, *J Clin Pathol* 38: 1127 (1985).
- 16- Goodwin C S, McCulloch R K, Armstrong J A, Wee S H: Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa, *J Med Microbiol* 19: 257 (1985).
- 17- Graham D Y, Klein P D, Opekun A R, Boutton T W, Evans D J, Evans D G, Alpert L C, Michaletz P A, Yoshimura H H, Adam E: Epidemiology of *Campylobacter pylori* infection: ethnic considerations, *Scand J Gastroenterol (Suppl)* 142: 9 (1988).
- 18- Hazell S L, Borody T J, Gal A, Lee A: *Campylobacter pyloridis* gastritis: I. Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis, *Am J Gastroenterol* 82: 292 (1987).
- 19- Hazell S L, Lee A: *Campylobacter pyloridis*, urease, hydrogen ion back diffusion, and gastric ulcers, *Lancet* 2: 15 (1986).
- 20- Hazell S L, Lee A: *Campylobacter pyloridis*, urease, and gastric ulcers, *Lancet* 2: 626 (1986).
- 21- Hazell S L, Lee A, Brady L, Hennessy W: *Campylobacter pyloridis* and gastritis: association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium, *J Infect Dis* 153: 658 (1986).
- 22- Jiang S J, Liu W Z, Zhang D Z, Shi Y, Xiao S D, Zhang H, Lu D Y: *Campylobacter*-like organisms in chronic gastritis, peptic ulcer and gastric carcinoma, *Scand J Gastroenterol* 22: 553 (1987).
- 23- Jones D M, Curry A, Fox A J: An ultrastructural study of the gastric *Campylobacter*-like organism "*Campylobacter pyloridis*", *J Gen Microbiol* 131: 2335 (1985).
- 24- Langenberg M L, Tytgat G N J, Schipper M E I, Rietra P J G M, Zanen H C: *Campylobacter*-like organisms in the stomach of patients and healthy individuals, *Lancet* 1: 1348 (1984).
- 25- Lee W K, Gourley W K, Buck G E, Subramanyam K: A light and electron microscopic study of *Campylobacter*-like bacteria inhabiting the human stomach (abstract), *Gastroenterology* 88: 1470 (1985).

- 26- Malfertheiner P, Stanescu A, Baczako K, Vanek E, Bode G, Ditschuneit H: Bismutsubsalicylat-Behandlung bei Campylobacter-pylori assoziierter chronischer erosiver Gastritis, *Dtsch Med Wochenschr* 113: 923 (1988).
- 27- Marshall B J, Goodwin C S: Revised nomenclature of Campylobacter pyloridis, *Int J Syst Bacteriol* 37: 68 (1987).
- 28- Marshall B J, McGeachie D B, Rogers P A, Glancy R J: Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease, *Med J Aust* 142: 439 (1985).
- 29- Marshall B J, Royce H, Annear D I, Goodwin C S, Pearman J W, Warren J R, Armstrong J A: Original isolation of Campylobacter pyloridis from human gastric mucosa, *Microbios Lett* 25: 83 (1984).
- 30- Marshall B J, Warren J R: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration, *Lancet* 1: 1311 (1984).
- 31- Marshall B J, Warren J R, Francis G J, Goodwin CS, Blincow E: Rapid urease test in the management of Campylobacter pyloridis associated gastritis, *Am J Gastroenterol* 82: 200 (1987).
- 32- McMullen I, Walker M M, Bain I A, Karim Q N, Baron J H: Histological identification of Campylobacter using Gimenez technique in gastric antral mucosa, *J Clin Pathol* 40: 464 (1987).
- 33- McNulty C A M, Dent J C, Uff J S, Gear M W, Wilkinson S P: Detection of Campylobacter pylori by the biopsy urease test: An assessment in 1445 patients, *Gut* 30: 1058 (1989).
- 34- McNulty C A M, Gearty J C, Crump B, Davis M, Donovan I A, Melikian V, Lister D M, Wise R: Campylobacter pyloridis and associated gastritis: investigator blind, placebo controlled trial of bismuth salicylate and erythromycin ethylsuccinate, *Br Med J* 293: 645 (1986).
- 35- McNulty C A M, Watson D M: Spiral bacteria of the gastric antrum, *Lancet* 1: 1068 (1984).
- 36- Mitchell H M, Lee A, Carrick J: Increased incidence of Campylobacter pylori infection in gastroenterologists: further evidence to support person-to-person transmission of C. pylori, *Scand J Gastroenterol* 24: 396 (1989).
- 37- Morris A, Nicholson G: Ingestion of Campylobacter pyloridis causes gastritis and raised fasting gastric pH, *Am J Gastroenterol* 82: 192 (1987).
- 38- Ormand J E, Talley N J: Campylobacter pylori, mucus, and peptic ulceration: a dynamic interaction, *J Clin Gastroenterol* 11: 492 (1989).
- 39- Owen R J, Martin S R, Borman P: Rapid urea hydrolysis by gastric campylobacters, *Lancet* 1: 111 (1985).
- 40- Perez-Perez G I, Taylor D N, Bodhidatta L, Wongsrichanalai J, Baze W B, Dunn B E, Echeverria P D, Blaser M J: Seroprevalence of Helicobacter pylori infections in Thailand, *J Infect Dis* 161: 1237 (1990).
- 41- Peterson W L: Helicobacter pylori gastritis: a normal phenomenon, *Gastroenterology* 99: 278 (1990).
- 42- Price A B, Levi J, Dolby J M, Dunscombe P L, Smith A, Clark J, Stephenson M L: Campylobacter pyloridis in peptic ulcer disease: microbiology, pathology, and scanning electron microscopy, *Gut* 26: 1183 (1985).
- 43- Rathbone B J, West A P, Wyatt J I, Johnson A W, Tompkins D S, Heatley R V: Campylobacter pyloridis, urease, and gastric ulcers, *Lancet* 2: 400 (1986).
- 44- Rauws E A J, Langenberg W, Houthoff H J, Zanen H C, Tytgat G N J: Campylobacter pyloridis-associated chronic active antral gastritis: a prospective study of its prevalence and the effects of antibacterial and antiulcer treatment, *Gastroenterology* 94: 33 (1988).

- 45- Rauws E A, Royen E A, Langenberg W, Woensel J V, Vrij A A, Tytgat G N: ^{14}C -urea breath test in *C. pylori* gastritis, *Gut* 30: 798 (1989).
- 46- Romaniuk P J, Zoltowaska B, Trust T J: *Campylobacter pyloridis*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* spp, *J Syst Bacteriol* 39: 397 (1989).
- 47- Schubert T T, Schnell G A: Prevalence of *Campylobacter pylori* in patients undergoing upper endoscopy, *Am J Gastroenterol* 84: 637 (1989).
- 48- Simor A E, Cooter N B, Low D E: Comparison of four stains and a urease test for rapid detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies, *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 9: 350 (1990).
- 49- Slomiany B L, Bilski J, Sarosiek J, Murty V L N, Dworkin B, VanHorn K, Zielenski J, Slomiany A: *Campylobacter pyloridis* degrades mucin and undermines gastric mucosal integrity, *Biochem Biophys Res Commun* 14: 307 (1987).
- 50- Stolte M, Eidt S, Ritter M, Bethke B: *Campylobacter pylori* und Gastritis: Assoziation oder Induktion? *Pathologe* 10: 21 (1989).
- 51- Sullivan P B, Thomas J E, Wight D G, Neale G, Eastham E J, Corrah T, Lloyd-Evans N, Greenwood B M: *Helicobacter pylori* in Gambian children with chronic diarrhoea and malnutrition, *Arch Dis Child* 65: 189 (1990).
- 52- Vaira D, D'Anastasio C, Holton J, Dowset J F, Londei M, Bertoni F, Beltrandi E, Grauenfels P, Salmon P F, Gandolfi L: *Campylobacter pylori* in abattoir workers: is it a zoonosis? *Lancet* 2: 725 (1988).
- 53- Van Horn K G, Dworkin B M: Direct gram stain and urease test to detect *Helicobacter pylori*, *Diagn Microbiol Infect Dis* 13: 449 (1990).
- 54- Warren J R, Marshall B J: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis, *Lancet* 1: 1273 (1983).
- 55- Westblom T U, Madan E, Kemp J, Subik M: Evaluation of rapid urease test to detect *Campylobacter pylori* infection, *J Clin Microbiol* 26: 1393 (1988).
- 56- Yeomans N D: Bacteria in ulcer pathogenesis, *Clin Gastroenterol* 2: 573 (1988).