

RIDA® QUICK Helicobacter

REF N2303



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. RIDA®QUICK Helicobacter est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative de l'antigène spécifique à *Helicobacter pylori* dans des échantillons de selles humaines.

2. Résumé et explication du test

En 1984, Marshall et Warren ont réussi à détecter la présence d'un organisme semblable à *Campylobacter* dans la muqueuse du corps de l'estomac et de l'antrum pylorique chez des patients présentant une gastrite confirmée par analyse histologique et des ulcères peptiques du duodénum. Il est aujourd'hui admis que *Helicobacter pylori* joue un rôle dans le développement des maladies gastro-intestinales. Les infections par *H. pylori* entraînent des inflammations présentant un lien de causalité avec la gastrite chronique, les ulcères gastriques, les ulcères de l'intestin grêle et les cancers gastriques. Ce postulat est confirmé par la guérison de la gastrite et des ulcères généralement constatée après un traitement d'éradication. *H. pylori* a développé divers mécanismes de défense pour survivre dans l'environnement acide et bactéricide de l'estomac. L'enzyme uréase convertit l'urée en ammoniac et en dioxyde de carbone, neutralisant ainsi l'acide gastrique. La production de catalase et de superoxyde dismutase protège *H. pylori* contre les attaques des neutrophiles. Parmi les patients infectés par *H. pylori*, nombreux sont ceux qui développent une gastrite et environ 10 % d'entre eux développent des ulcères. Parmi les patients présentant des ulcères de l'intestin grêle ou de l'estomac, 90 % sont positifs à *H. pylori*, quel que soit leur âge. Il existe deux approches de base pour diagnostiquer les infections à *H. pylori* : la détection directe de l'organisme et la détermination indirecte par la détection des anticorps produits par les patients en réponse à *H. pylori*. Bien qu'invasives, les méthodes de détection directes d'une infection incluent le test rapide à l'uréase, l'histologie, la PCR et la culture de l'organisme à partir d'échantillons obtenus par biopsie. La culture de *H. pylori* à partir d'échantillons obtenus par biopsie est un processus difficile et fastidieux. Les difficultés techniques qu'elle présente peuvent entraîner des résultats faussement négatifs, ce qui implique une sensibilité modérée. De plus, *H. pylori* a tendance à coloniser la muqueuse gastrique sous forme d'îlots, ce pourquoi la sensibilité de l'histologie est améliorée avec un plus grand nombre de biopsies. Le test respiratoire à l'urée est une autre méthode de détection directe de *H. pylori*. Ce test permet de détecter le dioxyde de carbone produit par l'uréase bactérienne. Il offre une sensibilité et une spécificité élevées, mais nécessite des dispositifs de test spéciaux et l'ingestion par les patients d'urée marquée par un isotope. Cependant, avec ces méthodes, la précision des tests dépendant de l'uréase (test rapide à l'uréase et test respiratoire à l'urée) est fortement influencée par la présence de facteurs

interférents. La détermination sérologique des anticorps spécifiques à *H. pylori* est un outil de détection couramment utilisé. Il s'agit d'une méthode de détection indirecte permettant de détecter les anticorps produits par le patient en réponse à *H. pylori*. Le test permettant de surveiller la réussite du traitement d'éradication par des méthodes sérologiques s'avère tout simplement insuffisant puisque le taux d'anticorps ne diminue que lentement sur plusieurs mois.

RIDA[®]QUICK Helicobacter est un test immunochromatographique rapide pour la détection directe et non invasive des antigènes de *H. pylori* dans les selles humaines. Reposant sur l'utilisation d'anticorps monoclonaux, ce test évite les fluctuations d'un lot à l'autre. La détection directe des antigènes peut être utilisée pour appuyer le diagnostic initialement posé et pour vérifier la réussite du traitement quatre à six semaines après la fin de la thérapie d'éradication ou pour détecter la réapparition d'une infection.

3. Principe du test

Ce test rapide est un test immunochromatographique à flux latéral en une seule étape utilisant des anticorps anti-*H. pylori* biotinylés et marqués à l'or. Lorsque des antigènes spécifiques à *H. pylori* sont présents dans un échantillon positif, des complexes immuns se forment contenant les anticorps anti-*H. pylori* marqués et qui traversent la membrane. La streptavidine de la ligne de test T se lie aux complexes immuns traversant la ligne de test par l'intermédiaire de la biotine associée aux anticorps anti-*H. pylori*, donnant à la ligne T une coloration rouge-violet. Les anticorps non liés et marqués à l'or ayant traversé la ligne de test se lient à la ligne de contrôle C suivante. Si les échantillons sont négatifs, les complexes immuns marqués à l'or ne se lient pas à la ligne T ; ils se lient uniquement à la ligne C. La ligne C rouge indique toujours si la procédure d'évaluation est valable.

4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 25 déterminations.

Cassette	25 déterminations	25 cassettes de test conditionnées individuellement
Reagent A	13,5 ml	Anticorps anti- <i>Helicobacter pylori</i> spécifique (souris) ; contient 0,05 % d'azoture de sodium, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Reagent B	13,5 ml	Anticorps anti- <i>Helicobacter pylori</i> spécifique (souris) ; contient 0,05 % d'azoture de sodium, prêt à l'emploi, de couleur jaune
Pipet	50 unités	Sachet contenant 50 pipettes multifonctions, graduées pour le pipetage d'échantillons liquides et dotées d'une spatule pour la mesure d'échantillons de selles
Reagent vial	25 unités	Sachet de 25 flacons de réaction

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS www.r-biopharm.com).

5. Instructions de conservation des réactifs

Le kit doit être entreposé entre 2 et 30 °C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie. De même, la validité des cassettes ne peut plus être garantie si l'emballage de la cassette est endommagé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1 Réactifs nécessaires

Aucun réactif supplémentaire n'est nécessaire pour effectuer ce test.

6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

Le matériel suivant est nécessaire pour effectuer ce test :

Matériel
Agitateur vortex (en option)
Conteneur de déchets contenant 0,5 % de solution d'hypochlorite

7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies et les membranes muqueuses. Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, tablier, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités avec des désinfectants adaptés (p. ex. hypochlorite de sodium) ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins une heure.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de selles doivent être prélevés dans des récipients standards propres ; ils peuvent être conservés jusqu'à trois jours entre 2 et 8 °C jusqu'à ce qu'ils soient utilisés pour effectuer le test. Si une conservation plus longue est nécessaire avant utilisation, les échantillons de selles doivent être conservés à -20 °C (Tableau 1). Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois. Les échantillons de selles ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal,

des ions métal, des agents oxydants ou des détergents car ces substances peuvent interférer avec le test RIDA®QUICK Helicobacter.

Tableau 1 : Conservation des échantillons

Échantillons de selles non dilués	
2 à 8 °C	≤ -20 °C
≤ 3 jours	> 3 jours

9. Réalisation du test

9.1 Informations générales

Les échantillons, les réactifs et les cassettes de test doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Pour cela, sortir les cassettes de test et autres composants nécessaires de l'emballage du kit de test au moins une heure avant d'effectuer le test. Les cassettes de test à proprement parler ne doivent pas être sorties de leur emballage avant utilisation. Ne pas réutiliser les cassettes de test une fois utilisées. La réalisation du test ne doit pas être effectuée à la lumière directe du soleil. Ne pas remettre les réactifs excédentaires dans les récipients pour éviter toute éventuelle contamination.

9.2 Préparation des échantillons

Avant utilisation, mélanger soigneusement tous les échantillons de selles pour répartir l'antigène de manière homogène.

Remarque :

Pour l'analyse de chaque échantillon, deux pipettes multifonctions graduées **Pipet** sont disponibles et sont utilisées de la manière suivante :

Pipette 1 : pipetage du réactif A **Reagent A** et de l'échantillon (50 µl pour les échantillons liquides) ou de 50 mg en utilisant la spatule à l'autre extrémité de la pipette pour les échantillons solides.

Pipette 2 : pipetage du réactif B **Reagent B** et mélange des réactifs A et B et de l'échantillon sur la cassette de test.

9.3 Analyse des échantillons

Dans un flacon de réaction étiqueté [Reagent vial], pipeter **0,5 ml** (troisième graduation) de [Reagent A] à l'aide de la pipette 1 et **0,5 ml** (troisième graduation) de [Reagent B] à l'aide de la pipette 2. Dans ce mélange réactionnel, ajouter l'échantillon de selles préalablement homogénéisé : 50 mg à l'aide de la spatule de la pipette 1 ou 50 µl (première graduation). Fermer hermétiquement le flacon de réaction et bien secouer pour mélanger le contenu (utiliser éventuellement un vortex). Placer ensuite le flacon de réaction dans le support fourni avec le kit de test pendant 5 minutes. Pendant ce temps, l'échantillon réagit avec le mélange réactionnel et les composants solides des selles se déposent sous forme de sédiments. Entre-temps, sortir la cassette de test [Cassette] amenée à température ambiante de son emballage et la placer sur une surface plane.

Dès que les 5 minutes du temps de réaction sont écoulées, ouvrir avec précaution le flacon de réaction et utiliser la pipette 2 pour prélever 150 µl (deuxième graduation) de surnageant clarifié et le transvaser dans l'entonnoir d'échantillonnage sur le bord de la cassette. Veiller à ce que le liquide puisse s'écouler à travers la membrane sans obstruction. Si le test est correctement réalisé, la bande de contrôle apparaîtra sur la ligne de contrôle C au bout d'environ 3 minutes. Si la ligne de contrôle n'est toujours pas visible au bout de 3 minutes, refermer le flacon de réaction et le centrifuger pendant 2 minutes à 2 000 x g pour sédimenter les particules solides de l'échantillon pouvant perturber la réaction. Après sédimentation, utiliser une nouvelle cassette de test pour renouveler le test.

Toujours attendre **15 minutes** avant de lire le résultat du test. Au fur et à mesure du développement et après séchage de la barrette, l'intensité et la coloration des bandes peuvent évoluer de rouge-violet à gris-violet, en passant par bleu-violet.

10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

Le test ne doit être évalué que si la cassette de test est intacte avant de pipeter la suspension de l'échantillon et si aucune modification de la couleur ou des bandes n'est observée. De même, après une période d'incubation de 15 minutes, au moins les bandes de contrôle de couleur rouge-violet doivent être visibles. Si elles n'apparaissent pas, vérifier les éléments suivants avant de renouveler le test :

- Durée de conservation des cassettes de test et des réactifs utilisés
- Réalisation du test correcte
- Contamination des réactifs

Si les conditions ne sont toujours pas remplies après répétition du test, consulter le fabricant ou votre distributeur local.

11. Évaluation et interprétation

Un maximum de deux bandes doit apparaître, vues dans le champ d'application de l'échantillon, avec la séquence suivante : une bande de réaction rouge-violet sur la ligne T du test et une bande de contrôle rouge-violet sur la ligne de contrôle C. **Si la bande de contrôle C est absente, le test ne peut pas être évalué et n'est pas valide !**

Les interprétations suivantes sont possibles :

- **Positif à *H. pylori*** : les bandes de contrôle et de test sont visibles.
- **Négatif à *H. pylori*** : seule la bande de contrôle est visible.
- **Non valide** : aucune bande n'est visible ou une option différente de celles décrites ci-dessus est observée. De même, les changements de couleur de bande apparaissant une fois le délai de 15 minutes écoulé n'ont aucune valeur diagnostique et ne doivent pas être évalués.

12. Limites de la méthode

Le test RIDA[®]QUICK Helicobacter détecte l'antigène spécifique à *H. pylori* dans les échantillons de selles humaines. L'intensité de la bande visible spécifique ne présente aucun lien avec l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.**

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux ou d'autres causes.

Un résultat **négatif** n'exclut pas l'éventualité d'une infection par *H. pylori*. Un tel résultat peut être dû à l'élimination temporaire de l'antigène spécifique ou à une quantité insuffisante d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par le pathogène cible, un autre prélèvement de selles du patient doit être examiné.

13. Performances

13.1 Qualité du test

La performance diagnostique du test RIDA[®]QUICK Helicobacter a été éprouvée dans un laboratoire de routine sur 266 échantillons de selles. Les échantillons avaient été prélevés sur des patients suspectés d'infection par *H. pylori*. L'examen diagnostique de routine utilisé par le laboratoire (certifié CLIA) a été effectué à titre de référence. Cinq échantillons situés à la limite des tests de diagnostic courants ont été exclus. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2 : Comparaison entre le test RIDA®QUICK Helicobacter et le test de diagnostic courant EIA (CLIA) effectué au centre d'études

		Concurrent EIA (CLIA)	
		pos.	nég.
RIDA®QUICK Helicobacter	pos.	37	6
	nég.	12	206

Corrélation positive : 80,4 %

Corrélation négative : 95,8 %

13.2 Précision

Pour déterminer la précision du test RIDA®QUICK Helicobacter, plusieurs facteurs ont été évalués : reproductibilité intra-essai (10 réplicats/1 jour/1 opérateur/1 lot), reproductibilité d'un jour sur l'autre (3 réplicats/10 jours/1 opérateur/1 lot), reproductibilité inter-opérateurs (3 réplicats/1 jour/3 opérateurs/1 lot) et reproductibilité inter-lots (3 réplicats/1 jour/1 opérateur/3 lots). Cinq références ont été mesurées à chaque analyse : une négative, deux faiblement positives et deux modérément positives. Le test RIDA®QUICK Helicobacter a produit le résultat attendu dans 100 % des mesures relevées lors des tests intra-essai, inter-jours et inter-opérateurs. Un résultat divergent a été trouvé sur un lot pour la référence faiblement positive de la précision inter-lots. Par conséquent, le test fournit des résultats précis dans toutes les conditions testées.

13.3 Réactivité croisée

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés à l'aide du test RIDA®QUICK Helicobacter et n'ont montré aucune réactivité croisée. Les examens ont été réalisés à l'aide de suspensions bactériennes (10^6 à 10^9 UFC/ml), de surnageants de cultures cellulaires provenant de cellules infectées par des virus et de préparations de capsides virales.

Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3 : Micro-organismes potentiellement réactifs au RIDA®QUICK Helicobacter

Organisme	Origine	Résultats
<i>Arcobacter butzleri</i>	Culture	Négatif
Adénovirus	Surnageant de culture cellulaire	Négatif
Astrovirus	Surnageant de culture cellulaire	Négatif
<i>Bacillus cereus</i>	Culture	Négatif
<i>Bacteroides fragilis</i>	Culture	Négatif
<i>Campylobacter coli</i>	Culture	Négatif
<i>Campylobacter fetus</i>	Culture	Négatif
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	Négatif
<i>Campylobacter lari</i>	Culture	Négatif
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Culture	Négatif
<i>Candida albicans</i>	Culture	Négatif
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	Négatif
<i>Clostridium difficile</i>	Culture	Négatif
<i>Clostridium sordellii</i>	Culture	Négatif
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Culture	Négatif
<i>Entamoeba histolytica</i>	Selles 1:10	Négatif
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	Négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	Négatif
<i>Escherichia coli</i> EHEC	Culture	Négatif
<i>Escherichia coli</i> EPEC	Culture	Négatif
<i>Escherichia coli</i> ETEC	Culture	Négatif
<i>Escherichia coli</i> STEC	Culture	Négatif
<i>Giardia lamblia</i>	Selles 1:10	Négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Culture	Négatif
Norovirus	Capside virale	Négatif
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	Négatif
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	Négatif
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	Négatif
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	Négatif

<i>Aeromonas hydrophila</i>	Culture	Négatif
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Culture	Négatif
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Culture	Négatif
Rotavirus	Surnageant de culture cellulaire	Négatif
<i>Shigella sonnei</i>	Culture	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	Négatif
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture	Négatif
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Culture	Négatif
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	Négatif

13.4 Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont montré aucun effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans des échantillons de selles positifs et négatifs à *Helicobacter* dans les concentrations indiquées :

Lopéramide	0,02 % p/p	Sulfate de baryum	18,50 % p/p
Pepto-bismol	6,30 % p/p	Iberogast	0,09 % p/p
Sang humain	5,00 % v/p	Édulcorant	1,30 % p/p
Acide stéarique/acide palmitique	40,00 % p/p	Quadrithérapie clarithromycine + métronidazole + amoxicilline + lansoprazole	1,50 % p/p
Mucine	5,00 % v/p		+ 1,20 % p/p
Diclofénac	0,10 % v/p		+ 3,00 % p/p
			+ 0,09 % p/p

13.5 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du test RIDA[®] QUICK Helicobacter a été établie sous forme de limite de détection par deux opérateurs avec deux lots de produit, en analysant une série de dilutions d'environ 4,8 ng d'antigène d'*Helicobacter*/ml. La limite de détection a été confirmée par 60 mesures effectuées sur cinq jours et sur deux lots par deux opérateurs utilisant 4,8 ng/ml, avec 100 % de résultats positifs.

14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et désignation
2018-06-07	Version pour la publication
2018-07-30	13.5 Sensibilité analytique

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in-vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

	Cassette de test
	Réactif A
	Réactif B
	Pipette
	Flacon de réaction

16. Bibliographie

1. Marshall B.J., Warren J.R. 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1(8390): 1311-1314.
2. Dunn B.E., Cohen H., Blaser M.J. 1997. *Helicobacter pylori*. *Clin Microbiol Rev* 10: 720-741.
3. D'Elios M.M., Andersen L.P., Del Prete G. 1998. Inflammation and host response. *Curr Opin in Gastroenterology*, 14 (suppl. 1): 15-19.
4. Delchier J.-C., Ebert M., Malfertheiner, P. 1998. *Helicobacter pylori* in gastric lymphoma and carcinoma. *Curr Opin in Gastroenterology*, 14 (suppl. 1): 41-45
5. Feldman, R.A., Eccersley, A.J.P., Hardie, J.M. 1997. Transmission of *Helicobacter pylori*. *Curr Op in Gastroenterology* 8: 8-12.
6. Graham D.Y., Klein P.D., Evans Jr. D.J., Evans D.G., Alpert L.C., Opekun A.R., Boutton T.W. 1987. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. *Lancet* 1(8543): 1174-1177.
7. Graham D.Y., Klein P.D., Opekun A.R., Boutton T.W. 1988. Effect of age on the frequency of active *Campylobacter pylori* infection diagnosed by the [¹³C] Urea breath test in normal subjects and patients with peptic ulcer disease. *J Infect Dis* 157 777-780.
8. Barthel J.S., Everett E.D. 1990. Diagnosis of *Campylobacter pylori* infections: the "Gold Standard" and the alternatives. *Rev Infect Dis* 12 (suppl.1): 107-114.
9. Kokkola A., Rautelin H., Puolakkainen P., Sipponen P., Farkkila M., Haapiainen R., Kosunen T.U. 2000. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, ¹³C-urea breath test, and serology. *Scand J Gastroenterol* 35(2): 138-141.
10. Vaira D., Holton J., Menegatti M., Ricci C., Landi F., Ali A., Gatta L., Acciardi C., Farinelli S., Crosatti M., Berardi S., Miglioli M. 1999. New immunological assays for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 45 (suppl. 1): I23-I27.
11. Vaira D., Miglioli M., Mule P., Holton J., Menegatti M., Vergura M., Biasco G., Conte R., Logan R.P., Barbara L. 1994. Prevalence of peptic ulcer in *Helicobacter pylori* positive blood donors. *Gut* 35: 309-312.
12. Graham D.Y., Malaty H.M., Evans D.G., Evans D.J. Jr., Klein P.D., Adam E. 1991. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology* 100: 1495-1501.
13. Makristathis A., Barousch W., Pasching E., Binder C., Kuderna C., Apfalter P., Rotter, M.L., Hirschl A.M. 2000. Two enzyme immunoassays and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. *J Clin Microbiol* 38(10): 3710-3714.

14. W. Fischbach, P. Malfertheiner, P. Lynen Jansen, W. Bolten, J. Bornschein, S. Buderus, E. Glocker, J. C. Hoffmann, S. Koletzko, J. Labenz, J. Mayerle, S. Miehke, J. Mössner, U. Peitz, C. Prinz, M. Selgrad, S. Suerbaum, M. Venerito, M. Vieth, 2016. S2k-Leitlinie *Helicobacter pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit. DOI <http://dx.doi.org/10.1055/s-0042-102967> Z Gastroenterol 2016; 54:327–363 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart, New York ISSN 0044-2771.
15. Diaconu S., Predescu A., Moldoveanu A., Pop C.S., Fierbințeanu-Braticevici C., 2017. *Helicobacter pylori* infection: old and new. *Journal of Medicine and Life* Vol. 10, Issue 2, April-June 2017, pp.112-117.
16. Ozbey G. and Hanafiah A. 2017. Epidemiology, Diagnosis and Risk Factors of *Helicobacter pylori* Infection in Children. *Euroasian J Hepatogastroenterol*. 2017 Jan-Jun;7(1):34-39.