

RIDA® QUICK Helicobacter

REF N2303



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDA®QUICK Helicobacter è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione qualitativa dell'antigene specifico dell'*Helicobacter-pylori* in campioni di feci umane.

2. Sintesi e spiegazione del test

Nel 1984 Marshall e Warren riuscirono a rilevare la presenza di un organismo simile al *Campylobacter* nella mucosa dell'antro e del corpo gastrico in pazienti con gastrite confermata istologicamente e ulcera peptica del duodeno. Ora sappiamo che l'*Helicobacter pylori* ha una relazione causale con lo sviluppo delle malattie gastrointestinali. Le infezioni da *H. pylori* causano infiammazioni che hanno una relazione causale con la gastrite cronica, le ulcere gastriche, le ulcere dell'intestino tenue e il cancro dello stomaco. Questa premessa è confermata dalla guarigione della gastrite e delle ulcere che in genere avviene in seguito alla terapia di eradicazione. L'*H. pylori* ha sviluppato numerosi meccanismi di difesa per sopravvivere nell'ambiente acido e battericida dello stomaco. L'enzima ureasi converte l'urea in ammoniaca e biossido di carbonio e così facendo neutralizza l'acido gastrico. La produzione di catalasi e superossido dismutasi protegge l'*H. pylori* dagli attacchi da parte dei neutrofili. Molti pazienti positivi all'*H. pylori* sviluppano gastrite e circa il 10 % dei pazienti sviluppano ulcere. Tra i pazienti con ulcere del piccolo intestino o dello stomaco, il 90 % sono *H. pylori* positivi, indipendentemente dall'età. Esistono due approcci di base alla diagnosi delle infezioni da *H. pylori*: la rilevazione diretta dell'organismo e la determinazione indiretta tramite rilevazione degli anticorpi prodotti dai pazienti in risposta all'*H. pylori*. I metodi di rilevazione diretta dell'infezione, benché invasivi, includono il test rapido dell'ureasi, l'analisi istologica, la PCR e la coltivazione dell'organismo dal materiale biotico. La coltivazione dell'*H. pylori* dal materiale biotico è un processo difficile e noioso. Le difficoltà tecniche possono condurre a risultati falsamente negativi e questo significa una sensibilità moderata. Inoltre, l'*H. pylori* tende a colonizzare la mucosa gastrica secondo un modello a isole ed è per questo che la sensibilità dell'analisi istologica aumenta all'aumentare del numero delle biopsie prelevate. Un altro metodo di rilevazione diretto dell'*H. pylori* è l'urea breath test. Questo test rileva la presenza di biossido di carbonio prodotto dall'ureasi batterica. Il breath test ha un'elevata sensibilità e specificità ma richiede dispositivi di analisi speciali e l'ingestione da parte dei pazienti di urea marcata con isotopi. Quando vengono usati questi metodi, tuttavia, l'accuratezza dei test dipendenti dall'ureasi (test rapido dell'ureasi e urea breath test) è fortemente influenzata dalla presenza di fattori interferenti. Uno strumento di rilevazione comunemente utilizzato è la determinazione sierologica degli anticorpi specifici dell'*H. pylori*. Si tratta di un metodo di rilevazione

indiretto che rileva gli anticorpi prodotti dal paziente in risposta all'*H. pylori*. Il test per il monitoraggio del successo della terapia di eradicazione con metodi sierologici è semplicemente insufficiente dato che il titolo anticorpale si riduce solo lentamente nel corso di più mesi.

RIDA®QUICK Helicobacter è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione diretta e non invasiva degli antigeni dell'*Helicobacter-pylori* in campioni di feci. Il test si basa sugli anticorpi monoclonali e previene le fluttuazioni tra i singoli lotti. La rilevazione diretta degli antigeni può essere usata per supportare la formulazione di una diagnosi iniziale e per controllare il successo della terapia quattro - sei settimane dopo la conclusione della terapia di eradicazione o per rilevare il ripresentarsi di un'infezione.

3. Principio del test

Questo test rapido è un test immunocromatografico a fase singola e flusso laterale che utilizza sia anticorpi biotinilati sia anticorpi anti *H. pylori* contrassegnati con particelle d'oro. Quando in un campione positivo sono presenti gli antigeni specifici dell'*H. pylori*, si formano immunocomplessi contenenti gli anticorpi anti-*H. pylori* marcati che attraversano la membrana. La streptavidina situata sulla linea di positività T lega gli immunocomplessi che attraversano la linea di positività tramite la biotina accoppiata agli anticorpi anti-*H. pylori* e determina una colorazione rosso violaceo della linea T. Gli anticorpi non complessati, contrassegnati con particelle d'oro, che attraversano la linea, si legano alla successiva linea di controllo C. Nel caso di campioni negativi, gli immunocomplessi contrassegnati con particelle d'oro non si legano alla linea T, ma solo alla linea C. La linea C rossa indica sempre se l'esecuzione del test è stata valida.

4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 25 determinazioni.

Cassette	25 determinazioni	25 cassette confezionate singolarmente
Reagent A	13,5 ml	Anticorpo anti- <i>Helicobacter pylori</i> specifico (topo); contiene 0,05% di azoturo di sodio, pronto all'uso, di colore blu
Reagent B	13,5 ml	Anticorpo anti- <i>Helicobacter pylori</i> specifico (topo); contiene 0,05% di azoturo di sodio, pronto all'uso, di colore giallo
Pipet	50 pz.	Sacchetto da 50 pipette multifunzione graduate per il pipettaggio di campioni liquidi, con spatola per la misurazione di campioni di feci solide
Reagent vial	25 pz.	Sacchetto da 25 flaconi

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS www.r-biopharm.com).

5. Istruzioni di conservazione

Il kit può essere conservato a 2 - 30 °C e utilizzato fino alla data di scadenza stampata. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida. Analogamente, l'utilizzabilità delle cassette non può più essere garantita se la confezione della cassetta è danneggiata.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1 Reagenti necessari

Non sono necessari reagenti aggiuntivi per eseguire questo test.

6.2 Attrezzatura di laboratorio necessaria

Per eseguire questo test è necessaria la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Vorticatore (opzionale)
Contenitore per rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5 %

7. Avvertenze e misure precauzionali

Esclusivamente per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici.

Nell'esecuzione del test, attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso. Non pipettare campioni o reagenti con la bocca. Evitare il contatto con lesioni cutanee e mucose. Durante la manipolazione di campioni e reagenti indossare gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti, grembiule e occhiali di protezione adatti) e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni.

Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS www.r-biopharm.com).

I reagenti contengono azoturo di sodio come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Tutti i reagenti e i materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati con adeguati disinfettanti (ad es. ipoclorito di sodio) o sottoposti a sterilizzazione a vapore per almeno un'ora a 121 °C.

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori standard puliti e possono essere conservati per un massimo di tre giorni a una temperatura di 2 - 8 °C prima dell'uso per il test. Qualora prima dell'uso sia necessaria una conservazione prolungata, i campioni di feci devono essere conservati a -20 °C (Tabella 1). Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione. Non raccogliere i campioni di feci in contenitori per il trasporto che contengano mezzi di trasporto come conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti o detergenti in quanto potrebbero crearsi interferenze con il test RIDA[®]QUICK Helicobacter.

Tabella 1: Conservazione del campione

Campioni di feci non diluiti	
2- 8 °C	≤ -20 °C
≤ 3 giorni	> 3 giorni

9. Esecuzione del test

9.1 Informazioni generali

I campioni, i reagenti e le cassette dei test devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. A questo scopo, rimuovere le cassette del test necessarie e gli altri componenti necessari dalla confezione del kit almeno un'ora prima di eseguire il test. Le cassette dei test devono essere estratte dalla confezione fino a poco prima dell'uso. Una volta utilizzate, non devono essere riutilizzate. L'esecuzione del test non deve avvenire in presenza di luce solare diretta. Non tornare a versare il reagente in eccesso nei contenitori, perché questo può causare contaminazione.

9.2 Preparazione dei campioni

Prima dell'uso, tutti i campioni di feci devono essere accuratamente miscelati per garantire una distribuzione omogenea dell'antigene.

Nota:

Per ogni test sui campioni, sono disponibili due pipette graduate multifunzionali **Pipet** da utilizzare come segue:

Pipetta 1: per il pipettaggio del reagente A **Reagent A** e il campione (50 µl per i campioni liquidi) o 50 mg utilizzando la spatola sull'estremità opposta della pipetta per i campioni solidi.

Pipetta 2: per il pipettaggio del reagente **Reagent B** e della miscela di reagente A e B con il campione sulla cassetta del test.

9.3 Test dei campioni

In un flacone di reagente con etichetta **Reagent vial**, pipettare **0,5 ml** (terza tacca) di **Reagent A** utilizzando la pipetta 1 e **0,5 ml** (terza tacca) **Reagent B** utilizzando la pipetta 2. Aggiungere a questa miscela di reagenti 50 mg utilizzando la spatola della pipetta 1 o 50 µl (prima tacca) del campione di feci precedentemente omogeneizzato. Chiudere ermeticamente il flacone di reazione e agitare bene il contenuto per miscelarlo (in alternativa, vorticare). Quindi posizionare il flacone di reagente sul telaio incluso nel kit per 5 minuti. Durante questo periodo, il campione reagisce con la miscela di reagenti mentre i componenti fecali solidi sedimentano. Nel frattempo, prelevare la cassetta del test **Cassette** a temperatura ambiente dalla confezione e collocarla su una superficie piana.

Trascorsi i 5 minuti del tempo di reazione, aprire con cautela il flacone di reagente e utilizzare la pipetta 2 per prelevare 150 µl (seconda tacca) di surnatante chiarificato e pipettarlo nell'imbuto del campione sul bordo della cassetta. Assicurarsi che il liquido fluisca attraverso la membrana senza difficoltà. Se il test viene eseguito correttamente, dopo circa 3 minuti la banda di controllo appare sulla linea di controllo C. Se la linea di controllo non è visibile dopo 3 minuti, il flacone di reazione deve

essere richiuso e centrifugato per 2 minuti a 2.000 x g al fine di lasciare sedimentare eventuali particelle solide problematiche nel campione. Dopo la sedimentazione, per ripetere il test è necessaria una nuova cassetta.

Attendere sempre **15 minuti** per leggere il risultato del test. Per l'intero tempo di sviluppo e dopo l'essiccazione della striscia, la colorazione e l'intensità delle bande può variare dal rosso-violetto al blu o al grigio-violetto.

10. Controllo qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

Il test dev'essere valutato solo se la cassetta del test è intatta prima di pipettare la sospensione del campione e se non sono visibili alterazioni del colore o delle bande. Inoltre, dopo un periodo di incubazione di 15 minuti, devono essere visibili almeno le bande di controllo rosso violacee. Se non compaiono, controllare i seguenti elementi prima di ripetere il test:

- Durata di conservazione delle cassette del test e dei reagenti utilizzati
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Contaminazione dei reagenti

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, contattare il produttore o il proprio distributore locale.

11. Valutazione e interpretazione

Devono apparire al massimo due bande, viste dal campo di applicazione del campione, nella sequenza qui indicata: Una banda di reazione rosso violacea sulla linea di positività T e una banda di controllo rosso violacea sulla linea di controllo C.

Se la banda di controllo C non è presente, il test non può essere valutato e non è valido!

Sono possibili le seguenti interpretazioni:

- **positivo all'*H. pylori***: le bande di controllo e di test sono visibili;
- **negativo all'*H. pylori***: è visibile solo la banda di controllo;
- **non valido**: non sono visibili bande o vi è una costellazione diversa da quella sopra descritta. Allo stesso modo, anche le variazioni cromatiche della banda che compaiono solo dopo un po' di tempo trascorsi i 15 minuti non hanno alcun valore diagnostico e non devono essere valutate.

12. Limiti del metodo

RIDA[®]QUICK Helicobacter rileva l'antigene specifico dell'*H. pylori* in campioni fecali umani. L'intensità della banda specifica visibile non ha alcuna associazione con l'insorgenza o la gravità dei sintomi clinici. **I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati tenendo conto dei segni e dei sintomi clinici.**

Un risultato **positivo** non esclude la presenza di altri patogeni infettivi o altre cause.

Una risultato **negativo** non esclude una possibile infezione da agenti patogeni dell'*H. pylori*. Un risultato simile può essere dovuto a escrezione intermittente dell'agente specifico o a una quantità insufficiente di antigene nel campione. Qualora a livello anamnestico sussista il sospetto di infezione da parte dell'agente patogeno, l'esame deve essere ripetuto con un altro campione di feci del paziente.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Qualità del test

Le prestazioni diagnostiche del test RIDA[®]QUICK Helicobacter sono state verificate su 266 campioni di feci in un laboratorio di routine. I campioni sono stati ottenuti da pazienti con sospetta infezione da *H. pylori*. Come riferimento è stato condotto il test diagnostico di routine usato in laboratorio (CLIA). Nel test diagnostico di routine, cinque campioni sono risultati borderline e sono stati esclusi. I risultati di questo studio sono presentati nella Tabella 2.

Tabella 2: Confronto tra il test RIDA[®]QUICK Helicobacter con il test EIA (CLIA) di diagnostica di routine presso il centro di studio

		EIA (CLIA) concorrente	
		pos.	neg.
RIDA [®] QUICK Helicobacter	pos.	37	6
	neg.	12	206

Concordanza positiva: 80,4 %

Concordanza negativa: 95,8 %

13.2. Precisione

Per determinare la precisione del test RIDA[®]QUICK Helicobacter, sono state esaminate la riproducibilità intra-test (10 repliche / 1 giorno / 1 operatore / 1 lotto), la riproducibilità inter-day (3 repliche / 10 giorni / 1 operatore / 1 lotto), la riproducibilità inter-operatore (3 repliche / 1 giorno / 3 operatori / 1 lotto) e la riproducibilità inter-lotto (3 repliche / 1 giorno / 1 operatore / 3 lotti). Per ogni esame sono stati misurati cinque riferimenti: uno negativo, due bassi positivi e due moderatamente positivi. Il test RIDA[®]QUICK Helicobacter ha prodotto il risultato atteso nel 100 % delle misurazioni per una verifica intra-test, inter-day e inter-operatore. È stato rilevato un risultato divergente per il riferimento basso positivo in un lotto nella precisione inter-lotto. Pertanto, il test fornisce risultati precisi in tutte le condizioni testate.

13.3. Reattività incrociata

Diversi microrganismi patogeni del tratto intestinale sono stati esaminati con il test RIDA®QUICK Helicobacter e non hanno evidenziato alcuna reattività incrociata. Gli esami sono stati eseguiti con sospensioni batteriche (da 10⁶ a 10⁹ CFU/ml), con supernatanti di colture cellulari infettate da virus e con preparazioni del capside virale.

I risultati di questo studio sono elencati nella Tabella 3.

Tabella 3: Potenziali microrganismi a reattività crociata in RIDA®QUICK Helicobacter

Organismo	Origine	Risultati
<i>Arcobacter butzleri</i>	Coltura	Negativo
Adenovirus	Supernatante di coltura cellulare	Negativo
Astrovirus	Supernatante di coltura cellulare	Negativo
<i>Bacillus cereus</i>	Coltura	Negativo
<i>Bacteroides fragilis</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter coli</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter fetus</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter jejuni</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter lari</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Coltura	Negativo
<i>Candida albicans</i>	Coltura	Negativo
<i>Citrobacter freundii</i>	Coltura	Negativo
<i>Clostridium difficile</i>	Coltura	Negativo
<i>Clostridium sordellii</i>	Coltura	Negativo
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Coltura	Negativo
<i>Entamoeba histolytica</i>	Feci 1:10	Negativo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coltura	Negativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coltura	Negativo
<i>Escherichia coli</i> EHEC	Coltura	Negativo
<i>Escherichia coli</i> EPEC	Coltura	Negativo
<i>Escherichia coli</i> ETEC	Coltura	Negativo
<i>Escherichia coli</i> STEC	Coltura	Negativo
<i>Giardia lamblia</i>	Feci 1:10	Negativo
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Coltura	Negativo

Norovirus	Capside virale	Negativo
<i>Proteus vulgaris</i>	Coltura	Negativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coltura	Negativo
<i>Salmonella enteritidis</i>	Coltura	Negativo
<i>Salmonella typhimurium</i>	Coltura	Negativo
<i>Shigella flexneri</i>	Coltura	Negativo
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Coltura	Negativo
<i>Helicobacter cinaedi</i>	Coltura	Negativo
<i>Helicobacter heilmannii</i>	Coltura	Negativo
Rotavirus	Supernatante di coltura cellulare	Negativo
<i>Shigella sonnei</i>	Coltura	Negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coltura	Negativo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Coltura	Negativo
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Coltura	Negativo
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Coltura	Negativo

13.4 Sostanze interferenti

Le sostanze incluse nell'elenco seguente non hanno mostrato effetti sui risultati dei test quando miscelate in campioni di feci positivi e negativi all'*Helicobacter* nelle concentrazioni descritte:

Loperamide	0,02 % w/w	Solfato di bario	18,50 % w/w
Peptobismol	6,30 % w/w	Iberogast	0,09 % w/w
Sangue umano	5,00 % v/w	Edulcorante	1,30 % w/w
Acido stearico/acido palmitico	40,00 % w/w	Terapia quadrupla claritromicina + metronidazolo + amoxicillina + lansoprazolo	1,50 % w/w
Mucina	5,00 % v/w		+ 1,20 % w/w
			+ 3,00 % w/w
Diclofenac	0,10 % v/w		+ 0,09 % w/w

13.5 Sensibilità analitica

Esaminando una serie di diluizione, due operatori in due lotti diversi di prodotto hanno determinato che la sensibilità analitica del test RIDA[®]QUICK Helicobacter è di circa 4,8 ng di antigene dell'*Helicobacter*. Il limite di rilevazione è stato confermato attraverso 60 misurazioni effettuate nell'arco di cinque giorni in due lotti da due operatori utilizzando 4,8 ng/ml con il 100 % di risultati positivi.

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
2018-06-07	Versione di rilascio
2018-07-30	13.5 Sensibilità analitica

15. Descrizione simboli

Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici del test

	Cassetta del test
	Reagente A
	Reagente B
	Pipetta
	Flacone di reagente

16. Bibliografia

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.