

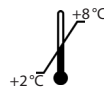
# **IDK<sup>®</sup> Helicobacter pylori Antigen ELISA**

*Zur in-vitro-Bestimmung von  
Helicobacter pylori in Stuhl*

*For the in vitro determination of  
Helicobacter pylori in stool*

Gültig ab / Valid from 2024-07-01

**REF** K 6923



**IVD**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

# Inhalt

|  |   |
|--|---|
| 1. VERWENDUNGSZWECK                          | 2 |
| 2. EINLEITUNG                                | 2 |
| 3. INHALT DER TESTPACKUNG                    | 2 |
| 4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL | 3 |
| 5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN  | 3 |
| 6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG          | 4 |
| 7. TESTDURCHFÜHRUNG                          | 4 |
| <i>Testprinzip</i>                           | 4 |
| <i>Pipettierschema</i>                       | 5 |
| 8. ERGEBNISSE                                | 6 |
| 9. EINSCHRÄNKUNGEN                           | 6 |
| 10. QUALITÄTSKONTROLLE                       | 6 |
| 11. TESTCHARAKTERISTIKA                      | 6 |
| <i>Genauigkeit – Präzision</i>               | 6 |
| <i>Sensitivität und Spezifität</i>           | 7 |
| 12. VORSICHTSMASSNAHMEN                      | 7 |
| 13. TECHNISCHE MERKMALE                      | 8 |
| 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST             | 8 |
| 15. LITERATUR                                | 9 |

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Sandwich-Assay ist für die qualitative Bestimmung von *Helicobacter pylori* in Stuhl geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

## 2. EINLEITUNG

*Helicobacter pylori* wird als Kausalfaktor der chronischen B-Gastritis, des nicht medikamentös bedingten *Ulcus duodeni*, als ätiologischer Stimulus des gastralen MALT-Lymphoms und als ein an der Magenkarzinom-Entwicklung beteiligter Erreger angesehen.

Die Epidemiologie der *Helicobacter-pylori*-Infektion ist in westlichen Industrienationen durch eine lineare Zunahme mit dem Alter und in Entwicklungsländern durch eine breite Durchseuchung bereits bei Kindern und Jugendlichen charakterisiert.

Die derzeit etablierten Testverfahren zur Diagnostik von *Helicobacter pylori* sind sensitiv und hoch spezifisch, benötigen jedoch invasive Maßnahmen oder spezielle technische Voraussetzungen.

Wir haben einen ELISA zur Bestimmung des *Helicobacter pylori* aus Stuhl entwickelt. Der Test bietet den Vorteil, ohne Verlust der Sensitivität oder Spezifität und ohne einen invasiven Eingriff, eine sichere Diagnostik zu gewährleisten, die zudem noch kostengünstig ist.

### Indikationen

- Nachweis einer *Helicobacter-pylori*-Infektion
- Kontrolle der Therapie einer *Helicobacter-pylori*-Infektion

## 3. INHALT DER TESTPACKUNG

| Art.-Nr.     | Bezeichnung | Kit-Komponenten                             | Menge                  |
|--------------|-------------|---|------------------------|
| K 6923       | PLATE       | Mikrotitermodul, vorbeschichtet             | 12 x 8<br>Vertiefungen |
| K 0001.C.100 | WASHBUF     | Waschpufferkonzentrat, 10 x                 | 2 x 100 ml             |
| K 6923       | SAMPLEBUF   | Probenverdünnungspuffer,<br>gebrauchsfertig | 1 x 100 ml             |
| K 6923       | CTRL NEG    | Kontrolle negativ, gebrauchsfertig          | 1 x 1 ml               |
| K 6923       | CTRL POS    | Kontrolle positiv, gebrauchsfertig          | 1 x 1 ml               |
| K 6923       | CONJ        | Konjugat, gebrauchsfertig                   | 8 ml                   |

| Art.-Nr.  | Bezeichnung | Kit-Komponenten                                 | Menge     |
|-----------|-------------|---|-----------|
| K 0002.15 | SUB         | Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig | 1 x 15 ml |
| K 0003.15 | STOP        | Stopplösung, gebrauchsfertig                    | 1 x 15 ml |

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

#### 4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser\*
- Laborwaage
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Vortex-Mixer
- Zentrifuge, 3 000 g
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)

\* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

#### 5. LAGERUNG UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (z. B. 100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Das bei **2–8 °C** gelagerte **WASHBUF** kann bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) ist **1 Monat bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

## 6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

### Lagerung

**Rohstuhl** ist 7 Tage bei Raumtemperatur, 7 Tage bei 2–8 °C und 7 Monate bei -20 °C stabil. Mehr als 3 Einfrier-Auftau-Zyklen sind zu vermeiden.

**Stuhlextrakt** ist 7 Tage bei 2–8 °C stabil.

### Stuhlprobenextraktion

**100 mg** Stuhl (bei flüssigen Stuhlproben 100 µl) in **500 µl** Probenverdünnpuffer (SAMPLEBUF)

ODER

**200 mg** Stuhl (bei flüssigen Stuhlproben 200 µl) in **1 ml** Probenverdünnpuffer (SAMPLEBUF) durch Vortexen homogenisieren.

Danach wird die Stuhlsuspension für 10 Minuten bei 3 000 rpm zentrifugiert.

**50 µl** des **Überstands vom Stuhlprobenextrakt** werden im Test pro Vertiefung eingesetzt.

Immundiagnostik AG empfiehlt zur einfacheren Dosierung und Homogenisierung des Probenmaterials das *IDKhighX*<sup>®</sup> Stuhlaufbereitungssystem mit der Bestell-Nr. K 6997X bzw. K 6997XHP befüllt mit 1 ml Probenverdünnpuffer (SAMPLEBUF).

## 7. TESTDURCHFÜHRUNG

### Testprinzip

Die Mikrotiterplatte ist beschichtet mit Antikörpern gegen *Helicobacter pylori*. Das in der Probe vorhandene *Helicobacter-pylori*-Antigen bindet im ersten Inkubationsschritt an die immobilisierten Antikörper. Gleichzeitig bindet auch der peroxidase-markierte Antikörper an das *Helicobacter-pylori*-Antigen. Nach einem Waschschrift wird als Peroxidasesubstrat Tetramethylbenzidin eingesetzt. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe von Säure abgestoppt. Dadurch erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Farbentwicklung ist dabei zur Analytmenge (Probe bzw. Kontrolle) proportional. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich des ermittelten Wertes mit dem Cut-Off-Wert.

### Pipettierschema

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur** (15–30°C) bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für Kontrollen und Proben im Protokollblatt.

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen müssen zusammen mit dem Trockenmittelbeutel in der verschlossenen Aluminiumverpackung bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2–8 °C gelagert werden.

Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automaten-spezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder Immundiagnostik AG.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

|    |  |
|----|--|
| 1. | Die Vertiefungen <b>vor Gebrauch 5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.         |
| 2. | <b>50 µl Konjugat</b> (CONJ) in jede Vertiefung vorlegen.  |
| 3. | <b>50 µl Positiv- bzw. Negativkontrolle und Stuhlprobenextrakt-überstände</b> (CTRL POS/CTRL NEG/SAMPLE) in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren, kurz mischen.                         |
| 4. | Streifen abdecken und <b>1 Stunde</b> bei Raumtemperatur (15–30°C) inkubieren.   |
| 5. | Inhalt der Vertiefungen verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen. |
| 6. | <b>100 µl Substrat</b> (SUB) in jede Vertiefung pipettieren.   |
| 7. | <b>10–20 min*</b> bei Raumtemperatur (15–30°C) <b>im Dunkeln</b> inkubieren.   |
| 8. | <b>100 µl Stopplösung</b> (STOP) in jede Vertiefung pipettieren, gut mischen   |
| 9. | <b>Extinktion sofort</b> im Mikrotiterplattenphotometer bei <b>450 nm</b> gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen.   |

\* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

## 8. ERGEBNISSE

**Cut-Off-Wert** = 0,150 OD

Die Ergebnisse werden gemäß ihrer Absorptionswerte kategorisiert, wobei der Cut-Off-Wert  $\pm 0,020$  OD als Kriterium verwendet wird:

|   |             |
|---|-------------|
| <b>OD 0,130–0,170</b> (Cut-Off-Wert $\pm 0,020$ OD) | grenzwertig |
| <b>OD &gt;0,170</b> (> Cut-Off-Wert + 0,020 OD)     | positiv     |
| <b>OD &lt;0,130</b> (< Cut-Off-Wert – 0,020 OD)     | negativ     |

## 9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben, welche nicht eindeutig interpretierbar sind (z. B. aufgrund hoher Variationskoeffizienten der Replikate), sollten wiederholt werden.

## 10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

## 11. TESTCHARAKTERISTIKA

*Genauigkeit – Präzision*

**Wiederholbarkeit (Intra-Assay); n = 22**

Die Wiederholbarkeit wurde mit 2 Stuhlproben unter **gleichbleibenden** Bedingungen (Bediener, Messgerät, Tag, Kitcharge identisch) bestimmt.

| Probe | Mittelwert [OD] | VK [%] |
|-------|-----------------|--------|
| 1     | 0,708           | 5,1    |
| 2     | 0,172           | 4,0    |

### Reproduzierbarkeit (Inter-Assay)

Die Reproduzierbarkeit wurde mit 3 Proben unter **variablen** Bedingungen (Bediener, Messgeräte, Tage, Kitchargen unterschiedlich) bestimmt.

| Probe      | Mittelwert [OD] | VK [%] |
|------------|-----------------|--------|
| 1 (n = 48) | 0,519           | 7,0    |
| 2 (n = 44) | 0,354           | 7,1    |
| 3 (n = 46) | 0,265           | 7,3    |

### Sensitivität und Spezifität

**Sensitivität, Spezifität, positiv- (PPW) und negativ-prädikative Werte (NPW) erhalten mit dem Test K 6920**

| K 6920                      | %    |
|-----------------------------|------|
| Klinische Sensitivität      | 97,7 |
| Klinische Spezifität        | 96,3 |
| Positiver prädikativer Wert | 98,8 |
| Negativer prädikativer Wert | 92,9 |

Proben, n = 113; *H. pylori* positiv, n = 86; *H. pylori* negativ, n = 27

Eine Vergleichsmessung von K 6920 und K 6923 (Proben, n = 45; *H. pylori* positiv, n = 30; *H. pylori* negativ, n = 15) ergab eine 100 %-ige Übereinstimmung der Werte.

## 12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind gesundheitsgefährdend und umweltschädlich. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen können zu Haut- und/oder Atemwegsreizungen führen. Jeder Kontakt mit den Substanzen ist zu vermeiden. Weiterführende Sicherheitsinformationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen, welches Sie auf Anfrage bei der Immundiagnostik AG erhalten.
- Das 10x Waschpufferkonzentrat (WASHBUF) enthält Tenside, welche bei Augenkontakt zu schweren Augenreizungen führen können.



**Achtung:** Verursacht schwere Augenreizung. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure ( $H_2SO_4$ ).  $H_2SO_4$  ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden.  $H_2SO_4$  verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden. Dämpfe nicht einatmen und Inhalation vermeiden.

### 13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Ferner dürfen Kavitäten unterschiedlicher Mikrotiterplatten, selbst der gleichen Charge, nicht zusammengefügt und zur Analyse verwendet werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während der Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigelegten Arbeitsanleitung durchzuführen.

### 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST













- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.

- *IDK*<sup>®</sup> ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.

## 15. LITERATUR

1. S. Blanco et al., 2008. Comparison of stool antigen immunoassay methods for detecting *Helicobacter Pylori* infection before and after eradication treatment. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **61** pp. 150–155.

### Verwendete Symbole:

|   |                                   |   |                                      |
|---|-----------------------------------|---|--------------------------------------|
|    | Temperaturbegrenzung              |    | Bestellnummer                        |
|   | In-Vitro-Diagnostikum             |   | Zu verwenden mit                     |
|  | Hersteller                        |  | Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen |
|  | Chargenbezeichnung                |  | Verwendbar bis                       |
|  | Achtung                           |  | Gebrauchsanweisung beachten          |
|  | Spezifikationsdatenblatt beachten |  | Reizend                              |

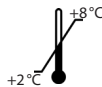


# **IDK<sup>®</sup> Helicobacter pylori antigen ELISA**

*For the in vitro determination of  
Helicobacter pylori in stool*

Valid from 2024-07-01

**REF** K 6923



**IVD**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com) [www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

## Table of Contents

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. INTENDED USE</b>                                  | <b>13</b> |
| <b>2. INTRODUCTION</b>                                  | <b>13</b> |
| <b>3. MATERIAL SUPPLIED</b>                             | <b>13</b> |
| <b>4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED</b>            | <b>14</b> |
| <b>5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS</b>           | <b>14</b> |
| <b>6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES</b>            | <b>14</b> |
| <b>7. ASSAY PROCEDURE</b>                               | <b>15</b> |
| <i>Principle of the test</i>                            | 15        |
| <i>Test procedure</i>                                   | 15        |
| <b>8. RESULTS</b>                                       | <b>16</b> |
| <b>9. LIMITATIONS</b>                                   | <b>16</b> |
| <b>10. QUALITY CONTROL</b>                              | <b>16</b> |
| <b>11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS</b>                  | <b>17</b> |
| <i>Accuracy – Precision</i>                             | 17        |
| <i>Sensitivity and specificity</i>                      | 17        |
| <b>12. PRECAUTIONS</b>                                  | <b>18</b> |
| <b>13. TECHNICAL HINTS</b>                              | <b>18</b> |
| <b>14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE</b> | <b>19</b> |
| <b>15. REFERENCES</b>                                   | <b>19</b> |

## 1. INTENDED USE

This Immundiagnostik AG assay is a qualitative sandwich ELISA for determination of *Helicobacter pylori* in stool. For *in vitro* diagnostic use only.

## 2. INTRODUCTION

*Helicobacter pylori* is regarded as a causative factor for chronic B-gastritis, drug-unrelated ulcer duodeni, and as an etiologic stimulus of gastric MALT-lymphoma. Furthermore, it is suspected of being involved in the pathogenesis of stomach carcinoma.

The epidemiology of infection by *Helicobacter pylori* has been characterised in western industrial nations by a linear increase with age. In developing countries a large number of children and juveniles is affected.

The currently used methods for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection are very sensitive and highly specific, but all include either invasive sampling or require special technical devices.

We have developed an ELISA for the detection of *Helicobacter pylori* infection from faecal samples. This cost-efficient methodology provides a reliable result without the loss of sensitivity or specificity and does not require invasive sampling.

### Indications

- Detection of a *Helicobacter pylori* infection
- Monitoring the effect of a *Helicobacter pylori* treatment

## 3. MATERIAL SUPPLIED

| Cat. No.     | Label     | Kit components                                 | Quantity     |
|--------------|-----------|--|--------------|
| K 6923       | PLATE     | Microtiter plate, pre-coated                   | 12 x 8 wells |
| K 0001.C.100 | WASHBUF   | Wash buffer concentrate, 10x                   | 2 x 100 ml   |
| K 6923       | SAMPLEBUF | Sample dilution buffer; ready-to-use           | 1 x 100 ml   |
| K 6923       | CTRL NEG  | Control negative, ready-to-use                 | 1 x 1 ml     |
| K 6923       | CTRL POS  | Control positive, ready-to-use                 | 1 x 1 ml     |
| K 6923       | CONJ      | Conjugate, ready-to-use                        | 1 x 8 ml     |
| K 0002.15    | SUB       | Substrate (tetramethylbenzidine), ready-to-use | 1 x 15 ml    |
| K 0003.15    | STOP      | Stop solution, ready-to-use                    | 1 x 15 ml    |

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as purchase order number.

## 4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultrapure water\*
- Laboratory balance
- Calibrated precision pipettors and 10–1 000 µl single-use tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Centrifuge, 3 000 g
- Vortex
- Standard single-use laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

\* Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

## 5. STORAGE AND PREPARATION OF REAGENTS

- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** has to be diluted with ultrapure water **1:10** before use (e.g. 100 ml WASHBUF + 900 ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at room temperature or in a water bath at 37 °C. The **WASHBUF** can be used until the expiry date stated on the label when stored at **2–8 °C**. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8 °C for 1 month**.
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents can be used until the expiry date (see label) when stored at **2–8 °C**.

## 6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

### Sample storage

**Raw stool** is stable for 7 days at room temperature, 7 days at 2–8 °C, and 7 months at -20 °C. More than 3 freeze-thaw cycles are to be avoided.

**Stool extract** is stable for 7 days at 2–8 °C.

### Extraction of stool samples

Add **500 µl** sample dilution buffer (SAMPLEBUF) to a stool sample of **100 mg** (100 µl liquid stool sample)

OR

add **1 ml** sample dilution buffer (SAMPLEBUF) to a stool sample of **200 mg** (200 µl liquid stool sample) and homogenise thoroughly on a vortex mixer.

Centrifuge the suspension for 10 min at 3 000 rpm.

For analysis, pipet **50 µl supernatant of this stool extract** per well.

Immundiagnostik AG recommends for sample preparation the use of *IDK highX*® stool preparation system, article number K 6997X or K 6997XHP filled with 1 ml sample dilution buffer (SAMPLEBUF).

## 7. ASSAY PROCEDURE

### *Principle of the test*

A microtiter plate is coated with antibodies specific for *Helicobacter pylori*. The *Helicobacter pylori* antigen in the sample is bound by the immobilised antibodies during the first incubation step. At the same time, a peroxidase-labelled antibody binds the *Helicobacter pylori* antigen. After a washing step tetramethylbenzidine is used as substrate for peroxidase. Finally, an acidic stop solution is added to terminate the reaction. The colour changes from blue to yellow. The intensity of the colour is proportional to the amount of analyte (sample or control). The results are evaluated by comparison with a cut-off value.

### *Test procedure*

Bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30 °C) and mix well.

Mark the positions of controls and samples on a protocol sheet.

Take as many microtiter strips as needed from the kit. Store unused strips together with the desiccant bag in the closed aluminium packaging at 2–8 °C. Strips are stable until the expiry date stated on the label.

For automated ELISA processors, the given protocol may need to be adjusted according to the specific features of the respective automated platform. For further details please contact your supplier or Immundiagnostik AG.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

|    |  |
|----|--|
| 1. | <b>Before use</b> , wash the wells <b>5 times</b> with <b>250 µl wash buffer</b> . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper. |
| 2. | Add <b>50 µl of conjugate</b> (CONJ) into each well.   |
| 3. | <b>Add 50 µl positive control, negative control, and supernatant of stool extract</b> (CTRL POS/CTRL NEG/SAMPLE) into respective well, mix shortly.  |



|    |  |
|----|--|
| 4. | Cover the strips and incubate for <b>1 hour</b> at room temperature (15–30°C).   |
| 5. | Discard the content of each well. Wash <b>5 times</b> by dispensing <b>250 µl</b> wash buffer into each well. After the final washing step remove residual buffer by tapping the plate on absorbent paper. |
| 6. | Add <b>100 µl substrate</b> (SUB) into each well.  |
| 7. | Incubate for <b>10–20 min*</b> at room temperature (15–30°C) in the <b>dark</b> .  |
| 8. | Add <b>100 µl stop solution</b> (STOP) into each well and mix well.  |
| 9. | Determine <b>absorption immediately</b> with an ELISA reader at <b>450 nm</b> against 620 nm (or 690 nm) as a reference.   |

\* The intensity of the colour change is temperature sensitive. We recommend observing the colour change and stopping the reaction upon good differentiation.

## 8. RESULTS

**Cut-off value** = 0.150 OD

The results are categorised according to their absorbances using the cut-off value  $\pm 0.020$  OD as criterion:

|  |            |
|--|------------|
| <b>OD 0.130–0.170</b> (cut-off value $\pm 0.020$ OD) | borderline |
| <b>OD &gt;0.170</b> (> cut-off value + 0.020 OD)     | positive   |
| <b>OD &lt;0.130</b> (< cut-off value – 0.020 OD)     | negative   |

## 9. LIMITATIONS

Samples which cannot be clearly interpreted (e.g. because of high coefficients of variation of replicates) should be measured again.

## 10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### *Accuracy – Precision*

#### **Repeatability (Intra-Assay); n = 22**

The repeatability was assessed with 2 stool samples under **constant** parameters (same operator, instrument, day and kit lot).

| Sample | Mean value [OD] | CV [%] |
|--------|-----------------|--------|
| 1      | 0.708           | 5.1    |
| 2      | 0.172           | 4.0    |

#### **Reproducibility (Inter-Assay)**

The reproducibility was assessed with 3 samples under **varying** parameters (different operators, instruments, days and kit lots).

| Sample     | Mean value [OD] | CV [%] |
|------------|-----------------|--------|
| 1 (n = 48) | 0.519           | 7.0    |
| 2 (n = 44) | 0.354           | 7.1    |
| 3 (n = 46) | 0.265           | 7.3    |

### *Sensitivity and specificity*

#### **Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of the K6920 test**

| K 6920                          | %    |
|---------------------------------|------|
| Clinical sensitivity            | 97.7 |
| Clinical specificity            | 96.3 |
| Positive predictive value (PPV) | 98.8 |
| Negative predictive value (NPV) | 92.9 |

Samples, n = 113; *H. pylori* positive, n = 86; *H. pylori* negative, n = 27  
Comparative measurements with K 6920 and K 6923 (Samples, n = 45; *H. pylori* positive, n = 30; *H. pylori* negative, n = 15) showed a 100% match between the values.

## 12. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Kit reagents contain sodium azide or ProClin as bactericides. Sodium azide or ProClin are hazardous to health and the environment. Substrates for enzymatic colour reactions may also cause skin and/or respiratory irritation. Any contact with the substances must be avoided. Further safety information can be found in the safety data sheet, which is available from Immundiagnostik AG on request.
- The 10x Wash buffer concentrate (WASHBUF) contains surfactants which may cause severe eye irritation in case of eye contact.

**Warning:** Causes serious eye irritation. **IF IN EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: get medical Advice/attention.

- The stop solution consists of diluted sulphuric acid, a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapour and avoid inhalation.

## 13. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay. Furthermore we recommend not assembling wells of different microtiter plates for analysis, even if they are of the same batch.
- Control samples should be analysed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.













## 14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- *IDK*® is a trademark of Immundiagnostik AG.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.
- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be send to Immundiagnostik AG along with a written complaint.

## 15. REFERENCES

1. S. Blanco et al., 2008. Comparison of stool antigen immunoassay methods for detecting *Helicobacter Pylori* infection before and after eradication treatment. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* **61** pp. 150–155.

**Used symbols:**

|   |                                    |   |                                   |
|---|------------------------------------|---|-----------------------------------|
|  | Temperature limitation             |  | Catalogue number                  |
|  | In Vitro Diagnostic Medical Device |  | To be used with                   |
|  | Manufacturer                       |  | Contains sufficient for <n> tests |
|  | Lot number                         |  | Use by                            |
|  | Attention                          |  | Consult instructions for use      |
|  | Consult specification data sheet   |  | Irritant                          |



## **Immundiagnostik AG**

Stubenwald-Allee 8a  
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

[info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

