

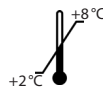
IDK[®] Helicobacter pylori Antigen ELISA

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

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

Gültig ab / Valid from 2021-08-04

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

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 Assay ist für die 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 Vertiefungen
K 0001.C.100	WASHBUF	Waschpufferkonzentrat, 10 x	2 x 100 ml
K 6923	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	1 x 75 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 10–1000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Vortex-Mixer
- Zentrifuge, 3000 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 (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 3000 rpm zentrifugiert.

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

Zur einfacheren Dosierung und Homogenisierung des Probenmaterials empfehlen wir das Probenvorbereitungssystem der Fa. Roche Diagnostics / Mannheim AG (Best. Nr. 10 745804 322).

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

OD 0,130–0,170 (Cut-Off-Wert $\pm 0,020$ OD)	grenzwertig
OD >0,170 (> Cut-Off-Wert + 0,020 OD)	positiv
OD <0,130 (< 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); n = 272

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

Probe	Mittelwert [OD]	VK [%]
1	0,519	7,0
2	0,354	7,1
3	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 giftig. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.
- 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*[®] 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:

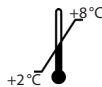
	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		

IDK[®] Helicobacter pylori antigen ELISA

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

Valid from 2021-08-04

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 www.immundiagnostik.com

Table of Contents

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

1. INTENDED USE

This Immundiagnostik AG assay is a 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 75 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 10–1000 µl single-use tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Centrifuge, 3000 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 (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 3000 rpm.

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

Immundiagnostik AG recommends for sample preparation the use of Roche Diagnostics / Mannheim sample preparation tubes, article No. 10745804322.

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.	Before use , wash the wells 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
2.	Add 50 µl of conjugate (CONJ) into each well.
3.	Add 50 µl positive control, negative control, and supernatant of stool extract (CTRL POS/CTRL NEG/SAMPLE) into respective well, mix shortly.
4.	Cover the strips and incubate for 1 hour at room temperature (15–30°C).

5.	Discard the content of each well. Wash 5 times by dispensing 250 µl wash buffer into each well. After the final washing step remove residual buffer by tapping the plate on absorbent paper.
6.	Add 100 µl substrate (SUB) into each well.
7.	Incubate for 10–20 min* at room temperature (15–30 °C) in the dark .
8.	Add 100 µl stop solution (STOP) into each well and mix well.
9.	Determine absorption immediately with an ELISA reader at 450 nm 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 ± 0.020 OD as criterion:

OD 0.130–0.170 (cut-off value ± 0.020 OD)	borderline
OD >0.170 (> cut-off value + 0.020 OD)	positive
OD <0.130 (< 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); n = 272

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

Sample	Mean value [OD]	CV [%]
1	0.519	7.0
2	0.354	7.1
3	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 Proclin as bactericide. Proclin is toxic. Substrates for the enzymatic colour reactions are toxic and carcinogenic. Avoid contact with skin or mucous membranes.
- 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 sent 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		