

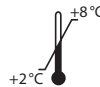
IDK[®] Helicobacter pylori Antigen ELISA Kit

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

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

Gültig ab / Valid from 2015-07-02

REF **K 6923**



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 849430

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>	4
8. ERGEBNISSE	6
9. EINSCHRÄNKUNGEN	6
10. QUALITÄTSKONTROLLE	6
11. TESTCHARAKTERISTIKA	7
<i>Präzision und Reproduzierbarkeit</i>	7
<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 6923	WASHBUF	ELISA-Waschpufferkonzentrat 10x	2 x 100 ml
K 6923	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer, 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 6923	SUB	TMB-Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 6923	STOP	ELISA-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
- 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 der hohen Salzkonzentration in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Der **WASHBUF** kann bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünnter WASHBUF) ist bei **2–8 °C einen Monat** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig, bei **2–8 °C** zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

6. PROBENLAGERUNG UND -VORBEREITUNG

Stuhlproben

Der Test kann mit frischem oder gefroren gelagertem Stuhl angesetzt werden. Wenn der Stuhl nicht am selben Tag getestet wird, sollte dieser bis zu seiner Verwendung bei -20°C oder kälter gelagert werden.

100 mg Stuhl einwiegen und in **1 ml** Probenverdünnungspuffer (SAMPLEBUF) lösen (vortexen). Danach wird die Stuhlsuspension für 10 Minuten stehen gelassen, damit sich der Feststoff absetzen kann. Für den Test wird der Überstand verwendet.

2 x je 50 µl jeder vorbereiteten Probe werden zur Bestimmung in Doppelwerten im Test eingesetzt.

Zur einfacheren Dosierung und Homogenisierung des Probenmaterials empfehlen wir das Probenvorbereitungssystem der Fa. Roche Diagnostics / Mannheim AG (Best. Nr. 10 745804 332).

Die Probenstabilität ist wie folgt:

Rohstuhl: 1 Tag bei Raumtemperatur, 3 Tage bei 2–8°C und mehrere Monate bei -20°C

Stuhlextrakt ist **nicht haltbar** und kann nicht aufbewahrt werden.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

Die Mikrotiterplatte ist beschichtet mit monoklonalen 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 monoklonale 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. Durch die Zugabe einer Stopplösung wechselt die Farbe 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.

Nicht verwendete Mikrotiterstreifen können in der 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 Platte vor Gebrauch 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf saugfähigem Papier ausschlagen.
2.	50 µl CONJ (Konjugat) in jede Vertiefung vorlegen.
3.	50 µl CTRL POS/CTRL NEG/SAMPLEBUF/SAMPLE (Positiv- bzw. Negativkontrolle, Probenverdünnungspuffer (Leerwert) und Stuhlsuspension-überstände) in die Vertiefungen pipettieren, kurz mischen.
4.	1 Stunde bei 15–30 °C abgedeckt inkubieren.
5.	Den Inhalt der Platte verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf saugfähigem Papier ausschlagen.
6.	100 µl SUB (TMB-Substratlösung) pro Vertiefung pipettieren.
7.	10–20 Minuten* (entsprechend der Farbentwicklung) bei 15–30 °C im Dunkeln inkubieren.
8.	100 µl STOP (Stopplösung) pro Vertiefung zusetzen und kurz 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

Beurteilung der Werte

Die Absorption des Leerwerts muss $< 0,100$ sein. Ist der Wert höher, muss der Testlauf wiederholt werden.

Testergebnis

Cut off-Wert = 0,150

Als **positiv** werden Proben betrachtet, deren Absorptionswert mindestens **0,020** über dem Cut-off-Wert liegen.

Als **grenzwertig** werden solche Proben betrachtet, deren Absorptionswert **0,020 unterhalb oder oberhalb** des Cut-off-Wertes liegen. Diese Bestimmungen sind zu wiederholen.

Wird bei einer Wiederholungsmessung wieder ein Grenzwert im **unteren** Bereich gemessen, sollte mit einer **neuen Probe** die Bestimmung wiederholt werden.

Wird bei der Wiederholungsmessung wieder ein Grenzwert im **oberen** Bereich gemessen, ist das Ergebnis als **positiv** zu werten.

Als **negativ** werden solche Proben beurteilt, deren Absorptionswert mehr als 0,020 unterhalb des Cut-off-Wertes liegen.

9. EINSCHRÄNKUNGEN

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

10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle.

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 die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

11. TESTCHARAKTERISTIKA

Präzision und Reproduzierbarkeit

Intra-Assay (n = 40)

Probe	MW (OD)	VK [%]
1	0,914	7,1
2	0,111	7,6

Inter-Assay (n = 36)

Probe	MW (OD)	VK [%]
1	1,750	8,3
2	0,378	8,3
3	0,100	11,6

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.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird emp-

fohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.

- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen ProClin. ProClin ist giftig. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.
- 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.

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 Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während den 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 im 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
	<i>In-Vitro</i> -Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis

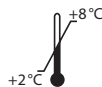
Manual

IDK[®] Helicobacter pylori Antigen ELISA Kit

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

Valid from 2015-07-02

REF K 6923



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 849430

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	17
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	17
<i>Precision and reproducibility</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 assay is a sandwich ELISA for determination of *Helicobacter pylori* in stool. The test kit is for *in vitro* diagnostic.

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 characterized 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	One holder with precoated strips	12 x 8 wells
K 6923	WASHBUF	ELISA 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 6923	SUB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine), ready to use	1 x 15 ml
K 6923	STOP	ELISA 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

- Ultra pure water*
- Laboratory balance
- Calibrated precision pipettors and 10–1000 µl tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Vortex
- Standard laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

* Immundiagnostik AG recommends the use of Ultra Pure 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)** should be diluted with ultra pure water **1:10** before use (100 ml WASHBUF + 900 ml ultra pure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the stock solutions. The crystals must be redissolved at room temperature or in a water bath at 37 °C before dilution of the buffer solutions. The **WASHBUF** is stable at **2–8 °C** until the expiry date stated on the label. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8 °C for one month**.
- All other test reagents are ready to use. Test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at **2–8 °C**.

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Stool

The test can be performed on either fresh or frozen stool samples. If the test cannot be performed within one day, the specimen should be stored at –20 °C or colder.

Add a stool sample of **100 mg** to **1 ml** of the sample dilution buffer (SAMPLEBUF) and homogenize thoroughly on a Vortex-mixer. Allow sample to stand for ~10 minutes until sediment has settled. For analysis, pipet **50 µl** of this suspension per well.

Immundiagnostik recommends for sample preparation the use of Roche Diagnostics / Mannheim sample preparation tubes, article No. 10745804332.

The sample stability is as follows:

Raw stool: 1 day at room temperature, 3 days at 2–8 °C, and several months at -20 °C.

Stool extract is not stable and cannot be stored.

7. ASSAY PROCEDURE*Principle of the test*

A microtiter plate is coated with monoclonal antibodies specific for *Helicobacter pylori*. The *Helicobacter pylori* antigen in the sample is bound by the immobilized antibodies during the first incubation step. At the same time, a peroxidase-labeled monoclonal 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.

Take as many **microtiter strips** as needed from the kit. Store unused strips covered at 2–8 °C. Strips are stable until 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.	Wash the precoated microtiter strips 5 x with 250 µl wash buffer before use. After the final washing step, the inverted microtiter plate should be tapped on absorbent paper. .
2.	Add 50 µl of CONJ (conjugate) into each well.
3.	Add 50 µl of CTRL POS/CTRL NEG/ SAMPLEBUF/SAMPLE (control positive, control negative, sample dilution buffer (blank) and samples (stool suspension)) into respective well, mix shortly.
4.	Cover and incubate for 1 hour at 15–30 °C.

5.	Discard the contents 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 of SUB (substrate) into each well.
7.	Incubate for 10–20 minutes* at 15–30 °C in the dark
8.	Add 100 µl of STOP (stop solution) into each well and mix shortly.
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

Calculation of the values

Blank absorbance must be < 0.100 . If the absorbance of the blank is higher, the analysis must be repeated.

Test result

Cut off-value = 0,150

Samples with absorbance **more than 0,020** above the cutoff-value are considered as **positive**.

Samples with an absorbance **0,020 below or above the cutoff-value** are regarded as **border line** samples and must be re-analyzed.

If the value from the **repeated** measurement is again in the **border line** range, a **new sample** should be analyzed.

If the value from the repeated measurement is again in the range **above the cut off-value**, the result is considered as **positive**.

Samples with absorbance more than **0,020 under the cutoff-value** are classified as **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

Precision and reproducibility

Intra-Assay (n = 40)

Sample	Mean (OD)	VK [%]
1	0.914	7.1
2	0.111	7.6

Inter-Assay (n = 36)

Sample	Mean (OD)	VK [%]
1	1.750	8.3
2	0.378	8.3
3	0.100	11.6

Sensitivity and Specificity

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

K6920	%
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 K6920 and K6923 (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.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- 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 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 analyzed 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 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