



Seraline[®] Anti-Helicobacter-6 IgG















Seraline[®] Anti-Helicobacter-6 IgA

Line Immunoassay zum qualitativen Nachweis von IgG- oder IgA-Antikörpern gegen *Helicobacter pylori*-spezifische Antigene in Serum oder Plasma humanen Ursprungs

REF	LIA-007-6 A		20
REF	LIA-007-6 G		20
IVD	In-vitro-Diagnostikum		CE



Seramun Diagnostica GmbH • Sprenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •
T +49 33767 791-10 • info@seramun.com • www.seramun.com

 UDI Eindeutige Produktidentifizierung	 IVD In-vitro Diagnostikum	 Hersteller
 Land der Herstellung und Datum der Herstellung	 Nicht wiederverwenden	 SN Seriennummer
 Begrenzung der Luftfeuchtigkeit	 Vor Sonnenlicht schützen	 REF Artikelnummer
 Gebrauchsanweisung beachten	 Verwendbar bis	 LOT Chargennummer
 Ausreichend für n Prüfungen	 Biologisches Risiko	 Temperaturbereich
		 Achtung

Zweckbestimmung

Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG und Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA sind IVD-Teste zur qualitativen Bestimmung von Antikörpern des IgG- bzw. IgA-Isotyps gegen *Helicobacter pylori*-spezifische Antigene Zytotoxin-assoziiertes Antigen A (CagA), vakuolisierendes Zytotoxin (VacA), allosterisches Protein Chaperon (GroEL), Urease Untereinheit A (UreA), cysteinreiches *Helicobacter* Protein C (HcpC) und γ -Glutamyltranspeptidase (gGT) in Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs durch einen Fachanwender in Laborumgebung.

Die Tests können angewendet werden in Kombination mit dem Zubehör Seraline®scan (Software).

Sie dienen der Diagnosehilfe einer abgelaufenen oder persistierenden *Helicobacter pylori* Infektion in Proben von Patienten mit Symptomen einer *H. pylori*-assoziierten Gastritis.

Die Tests dürfen nicht verwendet werden mit anderen Probenmaterialien als Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs, zu Überwachung, Screening (insbesondere von Magenkarzinomen), Diagnose, Vorhersage, Prognose, als therapiebegleitendes Diagnostikum, in patientennaher Umgebung und durch Laienanwender.

Testprinzip

Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG und Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA Tests sind Line Immunoassays (Membranimmunoassays).

Die Reaktion zum Nachweis der spezifischen Antikörper erfolgt in 3 Schritten:

Schritt 1

Inkubation der zu untersuchenden Proben zusammen mit Teststreifen bei Raumtemperatur für 45 min in einer Verdünnung von 1 : 101. Entfernung der nicht gebundenen Probenbestandteile durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer (WIB).

Schritt 2

Inkubation der Teststreifen für 45 min bei Raumtemperatur mit HRP-markierten Konjugatantikörpern. Entfernung der nicht gebundenen Konjugatantikörper durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit verdünntem WIB.

Schritt 3

Inkubation der Teststreifen bei Raumtemperatur für 10 min mit Substrat. Die gebundenen HRP-Moleküle des Konjugats setzen das Substrat unter Ausbildung blauer Präzipitate um.

Stoppen der Reaktion durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit deionisiertem Wasser. Entfernung der Restflüssigkeit durch Trocknen der Teststreifen zwischen Filterpapier. Die Färbung der entwickelten Streifen ist bei dunkler Lagerung stabil.

Kleben der entwickelten Teststreifen auf das Auswertetemplate. Dabei die Funktionskontrolle der Teststreifen exakt auf die im Auswertetemplate vorgedruckte Trennlinie legen.

Identifizierung der gefärbten Antigenbanden auf den getrockneten Teststreifen durch Anlegen der Auswerteschablone. Bestimmung des Testergebnisses entsprechend den Auswertekriterien und Dokumentation der identifizierten Banden im Auswertetemplate.

Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und die Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.

Testkomponenten (Lieferumfang)

Für 20 Bestimmungen:

1	TESTSTR	Teststreifen mit Auswerteschablone Spezifische Antigene auf Nitrozellulose-Membran (s. verwendete Antigene)	20 Streifen Farbmarkierung: braun in einem Faltheft im Druckverschlussbeutel
2	WIB (5x)	Wasch- und Inkubationspuffer (5x) Seramun® Wash and incubation buffer (5x) Wässrige Pufferlösung	70 mL Konzentrat für 350 mL verdünnte Lösung, farblos, schwarze Kappe
3	CONJ HRP IgG oder CONJ HRP IgA	Anti-human IgG-HRP-Konjugat anti-human IgG-HRP oder Anti-human IgA-HRP-Konjugat anti-human IgA-HRP	35 mL gebrauchsfertig IgG: rot gefärbt, rote Kappe IgA: violett gefärbt, violette Kappe
4	SUBSTR	Substrat SeramunBlau® prec <0,1 % 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin	35 mL gebrauchsfertig, farblos-hellgelb, blaue Kappe
5	INCUTRAY	Inkubationswanne mit Deckel	2 Stück
6	TEMPLATE	Auswertetemplate	1 Stück
7		Analysenzertifikat	1 Stück
8		Gebrauchsanleitung	1 Stück

Verwendete Antigene

Bezeichnung	Charakterisierung		Vorkommen*
CagA	120-145 kDa	Zytotoxin-assoziiertes Gen A	Typ I (hoch virulent)
VacA	87-97 kDa	Vakuolisierendes Zytotoxin	Typ I (hoch virulent)
GroEL	54-62 kDa	GroEL Chaperon	Typ II (virulent)
UreA	26 kDa	Urease Untereinheit α	Typ II
HcpC	28-32 kDa	Cysteinreiches Helicobacter Protein C	Typ II
gGT	59-61 kDa	γ -Glutamyltranspeptidase	Typ II

* Stammtypisierung nur im IgG-Nachweis möglich

Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Einkanal-Mikropipette und Pipettenspitzen für 15 µL und 1500 µL • Kunststoffpinzette • Messzylinder und Bechergläser • Teströhrchen für die Probenverdünnung • Wipp-Schüttler • Filterpapier • Klebestift • Absaugsystem mit Auffanggefäß für infektiöse Lösungen • deionisiertes Wasser • Stoppuhr

Optional:

Flachbettscanner • Evaluierungssoftware Seraline®scan • automatisches Bearbeitungsgerät

Wichtige Hinweise



Dieses Testbesteck ist nur zum *in-vitro* Gebrauch bestimmt und darf nur von geschultem Laborfachpersonal durchgeführt werden.

Die Gebrauchsanleitung ist strikt einzuhalten. Das Testbesteck oder seine geöffneten Reagenzien sind nur innerhalb der angegebenen Haltbarkeitsfristen zu verwenden. Komponenten aus beschädigten Verpackungen und Flaschen dürfen nicht verwendet werden. Die Komplettierung eines geöffneten Testbestecks mit Reagenzien anderer Hersteller ist nicht erlaubt.

Das Mischen von Testbesteckkomponenten verschiedener Chargen ist nur für die Komponenten Wasch- und Inkubationspuffer (5x) und Substrat erlaubt.

Alle im Zusammenhang mit Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG oder Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA auftretenden schwerwiegenden Vorkommnisse sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen sind, zu melden.

Arbeitsplatzanforderungen:

Für die Durchführung von Line Immunoassays wird ein sauberer und faserfreier Arbeitsplatz benötigt. An den Teststeifen anheftende Fasern führen zu fehlerhaften Resultaten. Arbeitsplatz und Kit-Komponenten sollten nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzt sein.

Hinweise zur Testdurchführung:

Die Lagertemperatur der Reagenzien bis zur Wiederverwendung beträgt 2...8 °C. Alle Testkomponenten vor Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen.

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren!

Die Reihenfolge der Pipettierschritte und die Dauer der Wasch- und Inkubationsschritte sind einzuhalten.

Blasenbildung beim Pipettieren vermeiden, dies führt zu Auswertungsfehlern.

Sicherheitshinweise

Reagenzien nicht verschlucken und Kontakt mit Schleimhäuten vermeiden.

Einige Reagenzien können Biozide als Konservierungsmittel enthalten.

Beim Umgang mit den Komponenten des Testbestecks sowie mit den Patientenproben sind die Vorschriften zur Unfallverhütung beim Umgang mit potenziell infektiösem Material und gefährlichen Chemikalien zu beachten.

Zusätzliche Informationen über die Angaben in dieser Gebrauchsanleitung hinaus finden sich im Sicherheitsdatenblatt.

Das Produkt enthält folgende gefahrenbestimmende Substanz/en.

TESTSTR	-	Enthält Material tierischen und mikrobiologischen Ursprungs.
WIB (5x)	EUH208 EUH210	Enthält Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen Ursprungs.
CONJ HRP	EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen und mikrobiologischen Ursprungs.
SUBSTR	EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.

Grenzen der Methode

Eine Interpretation des Ergebnisses soll nur in enger Verbindung mit klinischen Befunden erfolgen. Im Einzelfall können Wiederholungsuntersuchungen in mehrwöchigem Abstand hilfreich sein. In einer frühen Infektionsphase ist es möglich, dass Antikörper noch nicht oder nur in nicht nachweisbaren Mengen vorhanden sind. Kontaminationen der Reagenzien oder der Proben durch Bakterien oder Pilze können zu inkorrekten Ergebnissen führen.

Die Verwendung von kontaminierten Proben kann die Hintergrundfärbung der Streifen erhöhen und darüber hinaus zu falschen Ergebnissen führen.

In Ausnahmefällen, z. B. Hypergammaglobulinämien, dem Vorhandensein von zirkulierenden Immunkomplexen oder Milcheiweiß-Antikörpern, kann sich der Hintergrund der Streifen sehr schnell blau färben. In solchen Fällen ist die Farbreaktion vorzeitig durch 3-maliges Spülen mit deionisiertem Wasser zu stoppen.

Behandlung der Proben

Probennahme

Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs in geeignetem Gefäß sammeln.

Probenhaltbarkeit und -lagerung

Serum oder Plasma humanen Ursprungs maximal 48 Stunden bei 2...8 °C lagern. Bei längerer Aufbewahrung sind die Proben bei < -15 °C zu lagern. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Es ist zu beachten, dass Antikörper in Verdünnungen evtl. nicht stabil sind, was zu einem Aktivitätsverlust führen kann. Aus diesem Grund sollte eine notwendige Nachuntersuchung in einer höheren Verdünnung am selben Tag durchgeführt werden.

Probenvorbereitung

Serum/Plasma:

Vor der Verwendung die Proben auf RT erwärmen. Grundsätzlich sollte durch kurzes Aufschütteln die Homogenität gesichert werden.

Serum- oder Plasmaproben 1 : 101 (v/v) (15 µL Probe und 1500 µL verdünnter Wasch- und Inkubationspuffer (hergestellt aus WIB (5x)) in der Inkubationswanne verdünnen.

Behandlung der Reagenzien

Reagenzienhaltbarkeit und -lagerung

Das komplette Testbesteck mit verschlossenen Reagenzienflaschen und Teststreifen ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Alle geöffneten Testbesteckbestandteile sind bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2...8 °C bis zu 2 Monate haltbar. Der verdünnte Wasch- und Inkubationspuffer ist bei 2...8 °C bis zu 1 Monat verwendbar.

Reagenzienvorbereitung

Vor dem Testansatz sind alle Reagenzien auf Raumtemperatur zu erwärmen. Nicht benötigte Teststreifen in den Beutel zurücklegen und verschließen.

Wasch- und Inkubationspuffer WIB (5x) 1 : 5 (v/v) mit deionisiertem Wasser verdünnen.

Beispiel: 70 mL WIB (5x) + 280 mL deionisiertes Wasser. Der verdünnte Wasch- und Inkubationspuffer ist vor Verwendung gründlich zu durchmischen, Schaumbildung vermeiden!

Das **Substrat** ist vor direktem Lichteinfall zu schützen.

Testdurchführung

Die Durchführung erfolgt bei Raumtemperatur (RT, 18...25 °C). Alle gebrauchsfertigen Testreagenzien und der verdünnte Waschpuffer **auf Raumtemperatur erwärmen**.

Teststreifen mit einer Kunststoffpinzette so in die Inkubationswanne legen, dass die aufgedruckten Nummern nach oben zeigen.

Alle Inkubationsschritte sollten auf einem Wipp-Schüttler mit einer empfohlenen Schüttelfrequenz von 20 bis 30 Rotationen pro Minute erfolgen.

Die Reihenfolge der Pipettierschritte und deren Durchführung im Zeittakt sind einzuhalten.

1. Teststreifen **TESTSTR** mit **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer **5 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
2. **15 µL** Probe zugeben.
3. Wanne mit Deckel **INCUTRAY** abdecken und **45 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
4. Lösungen absaugen und Teststreifen **3x 5 min** mit jeweils **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer waschen.
5. **1,5 mL** Konjugat **CONJ HRP IgG** oder **CONJ HRP IgA** zugeben.
6. Wanne mit Deckel abdecken und **45 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
7. Lösungen absaugen und Teststreifen **3x 5 min** mit jeweils **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer waschen.
8. Teststreifen mit **1,5 mL** **SUBSTR** **10 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
9. Substrat absaugen und Teststreifen **3x** mit **1,5 mL** deionisiertem Wasser spülen.
10. Die Teststreifen nach dem Abstoppen zwischen Filterpapier **trocknen** und anschließend auswerten.

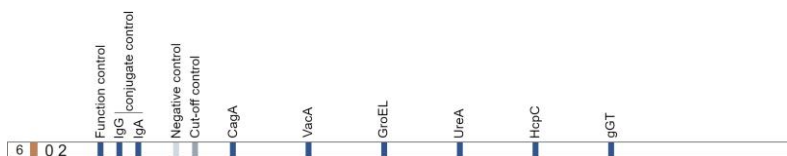
Auswertung der Ergebnisse

Gültigkeitskriterien für den Test

Auf jedem Teststreifen Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG und Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA sind 5 Kontrollbanden aufgetragen:

1. Die Funktionskontrolle muss sichtbar sein.
2. Die Konjugatkontrollen IgG bzw. IgA müssen sichtbar sein (positive Bande jeweils nur mit dem eingesetzten Konjugat anti-human IgG-HRP oder anti-human IgA-HRP).
Achtung: Die jeweils andere Konjugatkontrolle kann in Abhängigkeit von der Probe auch eine blasse, unspezifische Bande zeigen.
3. Die Intensität der Negativkontrolle muss kleiner als die der Cut-off Kontrolle sein.
4. Die Cut-off Kontrolle muss sichtbar sein (Bandenintensität dient der Bewertung der diagnostischen Banden als positiv oder negativ).

Der Test kann ausgewertet werden, wenn die Funktionskontrolle, die erwartete Konjugatkontrolle und die Cut-off Kontrolle sichtbar sind.



Sind die Gültigkeitskriterien nicht erfüllt, muss der Testansatz wiederholt werden. Die Abarbeitung muss gemäß Gebrauchsanleitung erfolgen (korrekte Reagenzienvorbereitung, korrekte Inkubationszeiten und -temperaturen, sorgfältiges Waschen). Sollten die Gültigkeitskriterien auch nach wiederholtem Testansatz nicht erfüllt sein, ist der Hersteller zu kontaktieren.

Die Testauswertung nur an trockenen Streifen durchführen. Die Teststreifen vor direktem Sonnenlicht schützen. Die Zuordnung der Banden mit Hilfe der beiliegenden Auswerteschablone durchführen. Die identifizierten Banden im Auswertetemplate dokumentieren.

Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und automatische Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.

Interpretation der Ergebnisse

Es werden nur Banden als positiv bewertet, die eine Intensität \geq der Cut-off Kontrolle zeigen.

Bewertung	Bewertungskriterien (gültig für IgG und IgA)
Positiv	1 Bande CagA, GroEL oder VacA oder ≥ 2 Banden
Grenzwertig	1 Bande gGT, HcpC oder UreA
Negativ	Farbintensität der Banden $<$ Cut-off Kontrolle

Leistungsmerkmale

Interferierende Substanzen

Alle getesteten Substanzen haben keine signifikanten Auswirkungen auf die Testergebnisse, wenn sie in stark erhöhten Konzentrationen im Serum vorhanden sind: Bilirubin C und F (Simulation ikterischer Proben) je 20 mg/dL, Hämoglobin (Simulation hämolytischer Proben) 500 mg/dL, Lipide (Triglyceride) (Simulation lipämischer Proben) 1000 mg/dL und Rheumafaktor 500 IU/mL.

Vergleichende Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der vergleichenden Sensitivität und Spezifität wurden n = 174 vorcharakterisierte Proben untersucht. Die vergleichende Sensitivität und Spezifität wurde im Vergleich zu Referenztest im Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG bestimmt. Grenzwertige Proben wurden positiv bewertet.

n = 174		Referenztest		
		positiv	grenzwertig	negativ
Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG	positiv	96	0	4
	grenzwertig	0	1	0
	negativ	3	0	70
Proben gesamt		99	1	74

Übereinstimmung: 96,0 %

Vergleichende Sensitivität: 97,0 %

Vergleichende Spezifität: 94,6 %

Zur Bestimmung der vergleichenden Sensitivität und Spezifität wurden n = 167 vorcharakterisierte Proben untersucht. Die vergleichende Sensitivität und Spezifität wurde im Vergleich zu Referenztest im Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA bestimmt. Grenzwertige Proben wurden positiv bewertet.

n = 167		Referenztest		
		positiv	grenzwertig	negativ
Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA	positiv	50	1	13
	grenzwertig	1	6	0
	negativ	4	0	92
Proben gesamt		55	7	105

Übereinstimmung: 89,8 %

Vergleichende Sensitivität: 93,5 %

Vergleichende Spezifität: 87,6 %

Durchseuchung (Infektionsprävalenz)

Ein Kollektiv von n = 400 Blutspendensereren wurde zur Ermittlung der Durchseuchungsrate im Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG untersucht.

n = 400	Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG	
	Anzahl [n]	Anzahl [%]
positiv	131	32,75
grenzwertig	8	2,00
+negativ	261	65,25

Infektionsprävalenz: 34,8 %.

Ein Kollektiv von n = 400 Blutspendensereren wurde zur Ermittlung der Durchseuchungsrate im Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA untersucht.

n = 400	Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA	
	Anzahl [n]	Anzahl [%]
positiv	67	16,75
grenzwertig	11	2,75
negativ	322	80,50

Infektionsprävalenz: 19,5 %.

Applikation

Software gestützte Auswertung

Die Auswertung erfolgt visuell mittels einer beiliegenden Schablone. Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und die Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.

Änderungshistorie

Version	Abschnitt	Änderungen
2022-09_v01_DE_EN	Gesamtes Dokument	Aktualisierung der Zweckbestimmung Umstellung der Teilabschnitt Einfügen der Sicherheitshinweise

Seraline[®] Anti-Helicobacter-6 IgG

Seraline[®] Anti-Helicobacter-6 IgA

Line Immunoassay for the qualitative detection of IgG or IgA antibodies directed against *Helicobacter pylori*-specific antigens in serum or plasma of human origin

REF	LIA-007-6 A		20
REF	LIA-007-6 G		20
IVD	In-vitro-diagnostic medical device		CE

Seramun Diagnostica GmbH • Sprenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •
 T +49 33767 791-10 • info@seramun.com • www.seramun.com

IVD In-vitro diagnostic medical device	UDI Unique device identifier	Manufacturer
Country of manufacture and date of manufacture	REF Article number	SN Serial number
Keep away from sunlight	Humidity limitation	LOT Batch code
Consult instructions for use	Temperature limit	Do not reuse
Sufficient for <i>n</i> tests	Biohazard	Use-by date
		Attention

Intended Use

Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG and Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA are IVD assays for the qualitative determination of antibodies of the IgG or IgA isotype against *Helicobacter pylori* specific antigens cytotoxin-associated antigen A (CagA), vacuolating cytotoxin (VacA), allosteric protein chaperonin (GroEL), urease subunit A (UreA), cysteine-rich *Helicobacter* protein C (HcpC), and γ -glutamyltranspeptidase (gGT) in serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin by a laboratory professional user.

The tests can be used in combination with accessory Seraline®scan (Software).

They are intended to aid in the diagnosis of a past or persistent *Helicobacter pylori* infection in specimen materials from patients with symptoms of *H. pylori-associated* gastritis.

The tests must not be used with specimen materials other than serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin, for monitoring, screening (especially of gastric carcinomas), diagnosis, prediction, prognosis, as companion diagnostic, in the near-patient setting and by lay persons.

Principle of the Test

Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG and Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA tests are line immunoassays (membrane-based immunoassays).

Detection of specific antibodies is performed in 3 steps:

Step 1

Incubation of 1 : 101 diluted samples and test strips for 45 min at room temperature. After incubation samples are aspirated and unbound components are removed by 3 wash cycles with diluted wash and incubation buffer (WIB).

Step 2

Incubation of test strips with HRP-labeled conjugate antibodies for 45 min at room temperature. Removal of unbound conjugate antibodies by aspiration and 3 wash cycles with WIB.

Step 3

Incubation of test strips with substrate for 10 min at room temperature. The reaction is stopped by aspiration and 3 wash cycles with deionized water. Removal of residual liquid by drying the test strips between filter paper. The coloration of the developed strips is stable when stored in the dark.

Fixation of the developed test strips on the evaluation template. When doing so, placement of the functional control of the test strips exactly on the separating line pre-printed in the evaluation template. Identification of the stained antigen bands on the dried test strips with help of the evaluation template. Determination of the test result according to the evaluation criteria and documentation of the identified bands in the evaluation template.

Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and evaluation with software Seraline®scan is possible.

Test Components (Delivery Scope)

		For 20 determinations
1	TESTSTR	Test strips with evaluation template Specific antigens on nitrocellulose membrane (see antigens used)
		20 strips color coding: brown in a folding booklet in a pressure seal bag
2	WIB (5x)	Wash and incubation buffer (5x) Seramun® Wash and incubation buffer (5x) Aqueous buffer
		70 mL concentrate for 350 mL diluted buffer, colorless, black cap
3	CONJ HRP IgG	Anti-human IgG-HRP-Conjugate anti-human IgG -HRP
	or	or
	CONJ HRP IgA	Anti-human IgA-HRP-Conjugate anti-human IgA -HRP
		35 mL IgG: ready-to-use solution, colored red, red cap IgA: ready-to-use solution, colored purple, purple cap
4	SUBSTR	Substrate SeramunBlau® prec <0.1 % 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine
		35 mL ready-to-use solution, colorless-pale yellow, blue cap
5	INCUTRAY	Incubation tray with cover
		2 pieces
6	TEMPLATE	Evaluation template
		1 piece
7		Certificate of Analysis
		1 piece
8		Instructions for Use
		1 piece

Antigens Used

Name	Description		Incidence*
CagA	120-145 kDa	Cytotoxin-associated gene A	Type I (highly virulent)
VacA	87-97 kDa	Vacuolating cytotoxin	Type I (highly virulent)
GroEL	54-62 kDa	GroEL chaperonin	Type II
UreA	26 kDa	Urease α subunit	Type II
HcpC	28-32 kDa	Helicobacter cysteine-rich protein C	Type II
gGT	59-61 kDa	γ -glutamyl transpeptidase	Type II

* The IgG test only allows strain typing

Additional Materials and Aids Required for the Test Procedure

Single-channel micropipette and pipette tips for 15 µL and 1500 µL • plastic tweezers • graduated cylinders and beakers • test tubes for sample dilution • rocking shaker • filter paper • glue stick • aspiration system with collection vessel for infectious solutions • deionized water • stopwatch

Optional:

Flatbed scanner • evaluation software Seraline® scan • automatic processing device

Important Information



This device is for *in vitro* diagnostic use only. The kit may be performed by trained laboratory personnel only.

Follow the instructions for use carefully.

The shelf life specified must be observed. Do not mix components with reagents from other manufacturers. Do not use reagents from damaged packages or bottles.

Mixing of test kit components of different lots is only allowed for wash and incubation buffer (5x) and substrate.

All serious incidents occurring in relation with Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG or Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA must be reported to the manufacturer and the competent authority of the EU member state in which the user and/or the patient are located.

Workplace Requirements

A clean and fiber-free workspace is required to perform line immunoassays. Particles or fibers which may adhere to the test strips can lead to erroneous results. The workstation and kit components should not be exposed to direct sunlight.

Information on Assay Procedure

All reagents should be stored at 2...8 °C. Bring all components to room temperature before use.

Store substrate protected from light!

The order of the pipetting steps and duration of the wash and incubation steps must be observed. Avoid bubble formation during pipetting, this will lead to evaluation errors.

Safety Instructions

Reagents must not be swallowed. Contact with skin or mucous membranes should be avoided. Some reagents may contain biocides as preservative.

Handle all components and patient samples as if potentially hazardous and infectious. Additional information may be taken from the Material Safety Data Sheet.

The product contains the following hazard component/-s.

TESTSTR	-	Contains material of animal and microbiological origin.
WIB (5x)	EUH208	Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May cause allergic reactions.
	EUH210	Safety data sheet available on request.
		Contains material of animal origin
CONJ HRP	EUH210	Safety data sheet available on request.
		Contains material of animal and microbiological origin.
SUBSTR	EUH210	Safety data sheet available on request.

Limitations of the Procedure

Result interpretation should always consider clinical findings. Individual cases may require repeated investigations of samples taken at intervals of several weeks. In an early stage of infection antibodies may not be present yet or below detection limit.

Impurities and cross contamination of reagents or samples by fungi or bacteria can lead to false positive as well as false negative results.

The use of contaminated samples may increase the background color of the test strips and lead to incorrect results.

In rare cases, e.g., hypergammaglobulinemia, circulating immune complexes, or milk antibodies, the test strips may turn blue very quickly. In such cases the color reaction should be stopped early by rinsing the test strips 3 times with deionized water.

Sample Treatment

Sample Collection

Collect serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin in suitable sampling container.

Sample Shelf Life and Storage

Samples can be stored at 2...8 °C for a maximum of 48 hours. For longer periods samples have to be stored at < -15 °C. Repeated freezing and thawing of samples should be avoided.

It should be noted that diluted antibodies may not be stable, which may lead to a loss of activity. Required follow-up testing at higher dilution therefore should be performed same day.

Sample Preparation

Serum/Plasma:

Bring samples to RT before use. In general, homogeneity should be ensured by brief shaking.

Dilute serum or plasma samples 1 : 101 (v/v) (15 µL sample and 1500 µL diluted wash and incubation buffer (prepared from WIB (5x)) in the incubation well.

Reagent Treatment

Reagent Shelf Life and Storage

The complete test kit with sealed reagent bottles and test strips is stable until the printed expiration date when stored at 2...8 °C. All opened test kit components are stable for up to 2 months when stored properly at 2...8 °C. The diluted wash and incubation buffer can be stored at 2...8 °C for up to 1 month.

Reagent preparation

Allow all components to reach **room temperature** prior to use. Return unused test strips to the pouch and seal.

Dilute **wash and incubation buffer WIB (5x)** 1 : 5 with deionized water.

Example: 70 mL WIB (5x) + 280 mL deionized water. The prepared wash and incubation buffer must be thoroughly mixed before use. Avoid foam formation!

The **substrate** must be protected from direct light.

Assay Procedure

Test must be performed at room temperature (18...25 °C). Bring **all** ready-to-use test reagents and the diluted wash buffer to **room temperature**.

Place test strips in incubation wells using plastic tweezers. Imprinted numbers should point upwards.

All incubation steps should be performed on a rocking shaker with a recommended frequency of 20 to 30 rotations per minute.

Follow the pipetting scheme and time schedules of the protocol.

1. Incubate test strip with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer for **5 min** on the shaker
2. Add **15 µL** of sample.
3. Cover tray with lid and incubate on rocking shaker for **45 min**.
4. Aspirate solutions and wash test strips **3x 5 min** with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer.
5. **Add 1.5 mL** conjugate or .
6. Cover tray with lid and incubate for **45 min** on rocking shaker.
7. Aspirate solutions and wash test strips **3x 5 min** with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer.
8. Incubate test strips with **1.5 mL** for **10 min** on rocking shaker.
9. Aspirate substrate and rinse test strip **3x** with **1.5 mL** deionized water to stop color reaction.
10. **Dry** test strips between filter paper, then evaluate.

Evaluation of Results

Validity criteria for the Test

Each test strip of Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG and Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA contains 5 control bands:

1. The function control must be visible.
2. The conjugate controls IgG and IgA must be visible (positive band with the conjugate anti-human IgG-HRP or anti-human IgA-HRP used).

Caution: The respective other conjugate control can also show a pale, non-specific band depending on the sample.

3. The intensity of the negative control must be lower than that of the cut-off control.
4. The cut-off control must be visible (intensity of the bands is used to discriminate between positive and negative results).

Test may be evaluated if function control, expected conjugate control and cut-off control are visible.



If the above-mentioned quality criteria are not met, test should be repeated strictly following the test procedure (incubation times and temperatures, sample and wash and incubation buffer dilution, wash steps). In case of repeated failure of the quality criteria contact the manufacturer.

Evaluate dry test strips only. Protect test strips from direct sunlight. Assign protein bands using the enclosed evaluation template.

Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and automatic evaluation with Seraline®scan evaluation software is possible.

Interpretation of Results

Bands with an intensity \geq cut-off control only are considered positive.

Evaluation	Evaluation Criteria (valid for IgG and IgA)
Positive	1 band CagA, GroEL or VacA or 2 bands
Borderline	1 band gGT, HcpC or UreA
Negative	Color intensity of bands < cut-off control

Performance Characteristics

Interfering substances

All tested substances do not have a significant impact on the test results even if present in elevated concentrations in the serum: 20 mg/dL bilirubin C and F each (simulation of icteric samples); 500 mg/dL hemoglobin (simulation of hemolytic samples); 1000 mg/dL lipids (triglycerides) (simulation of lipemic samples) and 500 IU/mL rheumatoid factor.

Comparative sensitivity und specificity

For the determination of comparative sensitivity and specificity, n = 174 precharacterized samples were tested. Comparative sensitivity and specificity were determined in comparison to reference test in Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG. Borderline samples were evaluated positively.

n = 174		Reference test		
		positive	borderline	negative
Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG	positive	96	0	4
	borderline	0	1	0
	negative	3	0	70
Samples total		99	1	74

Consistency: 96.0 %

Comparative sensitivity: 97.0 %

Comparative specificity: 94.6 %

For the determination of comparative sensitivity and specificity, n = 167 precharacterized samples were tested. Comparative sensitivity and specificity were determined in comparison to a reference test in Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA. Borderline samples were evaluated positively.

n = 167		Reference test		
		positive	borderline	negative
Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA	positive	50	1	13
	borderline	1	6	0
	negative	4	0	92
Samples total		55	7	105

Consistency: 89.8 %

Comparative sensitivity: 93.5 %

Comparative specificity: 87.6 %

Prevalence of Infection

A study population of n = 400 blood donors was investigated to determine the prevalence of infection rate in Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG.

n = 400	Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG	
	number of samples [n]	number of samples [%]
positive	131	32.75
borderline	8	2.00
negative	261	65.25

Infection prevalence in Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgG: 34.8 %.

A study population of collective of n = 400 blood donors was investigated to determine the prevalence of infection rate in Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA.

n = 400	Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA	
	Number of samples [n]	Number of samples [%]
positive	67	16.75
borderline	11	2.75
negative	322	80.50

Infection prevalence in Seraline® Anti-Helicobacter-6 IgA: 19.5 %.

Application

Software-based Evaluation

Evaluation is performed visually using the enclosed template. Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and evaluation with Seraline®scan evaluation software is possible.

Change History

Version	Section	Modifications
2022-09_v01_DE_EN	Entire document	Updating of the intended use Conversion of subsections Insertion of safety instructions

References

1. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ: *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews* 1997; 10: 720-741.
2. Fischbach W et al.: Aktualisierte S2k-Leitlinie „*Helicobacter pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit“ der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS). AWMF-Registernummer: 021 – 001, 2022.
3. Gao L, Weck MN, Michel A et al.: Association between chronic atrophic gastritis and serum antibodies to 15 *Helicobacter pylori* proteins measured by multiplex serology. *Cancer Res* 2009; 69:2973-80.
4. Gao L, Michel A, Weck MN et al.: *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Cancer Risk: Evaluation of 15 *H. pylori* proteins determined by novel multiplex serology. *Cancer Res* 2009; 69:2973-80.
5. Hahn H, Falke D, Ullmann U (Hrsg.): *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 3. Auflage 1999.
6. Hocker M. and Hohenberger P.: *Helicobacter pylori* virulence factors-one part of a big picture. *Lancet* 2003; 362:1231-3.
7. Huang JO, Zheng GF, Sumanac K et al.: Meta-analysis of the relationship between *cagA* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 2003; 125:1636-44.
8. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CO et al.: Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht V/ Florence Consensus Report. *Gut* 2017; 66:6-30.
9. Urita Y, Hike K, Torii N et al., Comparison of serum IgA and IgG antibodies for detecting *Helicobacter pylori* infection. 2004; 43(7): 548-552.