Microorganismos

Pseudomonas aeruginosa	*Staphylococcus aureus* (Cowan)*	*Mycoplasma arginini*
Enterobacter aerogenes	*Clostridium difficile*	*Mycoplasma hominus*
Enterobacter cloacae	*Candida albicans*	*Mycoplasma hyorthinis*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus mirabilis*	*Mycoplasma orale*
Serratia marcescens	*Acholeplasma laidlawii*	*Mycoplasma pneumoniae*
Escherichia coli		

Virus

Coxsackievirus A-9	Rhinovirus 3	Echovirus 6
Coxsackievirus B-3	Rhinovirus 17	Echovirus 7
Coxsackievirus B-4	Rhinovirus 43	Echovirus 9
Coxsackievirus B-5	Varicella zoster	Echovirus 11
Poliovirus I	Chlamydia trachomatis	Echovirus 17
Poliovirus II	Simian foamyvirus 2	Echovirus 18
Poliovirus III	Simian foamyvirus 8	Echovirus 22
Human Coronavirus	Measles	Herpes simplex 1
Reovirus 1	Respiratory Syncytial virus	Herpes simplex 2
Reovirus 2	Cytomegalovirus	Small round virus (SRV)
Reovirus 3	Influenza A	Rotavirus
Parainfluenza-1	Influenza B	Norwalk virus
Parainfluenza-2	Calicivirus	Astrovirus
Parainfluenza-3	Papovavirus SV-40	Myxoviruses-Paramyxovruses SV-5

* Falsos positivos también pueden ocurrir si se encuentran presentes altos niveles de la proteína A de *S. aureuss*, como en la cepa Cowan. La *enterocolitis estafilocócica* es una enfermedad poco común que generalmente ha sido descrita en pacientes adultos y es extremadamente rara en infantes y ninos[25, 26].

DEUTSCH

PREMIER®
ADENOCLONE®

ELISA zum direkten Nachweis von Adenovirus-Antigen in humanen Stuhlproben und zur Identifizierung von Adenoviren in Zellkulturen

REF **696007** IVD **In-vitro-Diagnostikum**

VERWENDUNGSZWECK

Premier Adenoclone ist ein Enzymimmunoassay (ELISA) zum qualitativen Nachweis von humanpathogenen Adenoviren direkt aus Stuhlproben oder zur Identifizierung von Adenoviren in Proben aus dem Atmungstrakt, den Augen oder dem Darm, die in Zellkulturen angezüchtet wurden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Es gibt 41 bekannte Typen von humanpathogenen Adenoviren, die vorrangig serologisch oder durch DNA-Elektrophorese klassifiziert sind. Die Viren sind unbehüllte, DNA-haltige Ikosaeder, die sich aus 252 Kapsomeren zusammensetzen. Das Virion enthält eine Anzahl von Gattungs- und Typ-spezifischen Proteinen; zu den Gattungs-(Gruppen-)spezifischen Proteinen gehören der alpha-Teil des Hexon, die Penton-Basis, der Delta-Teil des Gerüsts und Polypetid IIIa. Der monoklonale Antikörper in **Premier Adenoclone** ist gegen das Gruppen-reaktive Hexon-Antigen gerichtet,das all denjenigen Adenoviren gemeinsam ist, die für Menschen,Affen, Hunde, Schweine, Mäuse, Rattan oder Rinder pathogen sind. Es konnte gezeigt werden, daß dieser monoklonale Antikörper im ELISA mit allen 41 humanpathogenen Adenovirus-Typen reagiert[1].

Adenoviren können eine Vielzahl von klinischen Erkrankungen beim Menschen auslösen einschließilich Erkrankungen des Atmungstraktes (akute fiebrige Pharyngitis, Pharyngokonjunktivalfieber, akute Atemwegserkrankungen, Lungenentzündung), Erkrankungen der Augen (epidemische Keratokunjunktivitis, die „swimming pool"- Konjunktivitis) und Gastroenteritiden[2-4].

Die Identifizierung von Adenoviren erfolgt in Gewebekulturen im allgemeinen durch das Auftreten charakteristischer zytotoxischer Effekte (CPE). Zellinien, die empfindlich gegen Adenoviren sind, sind kontinuierliche Zelllinien epithelialen Ursprungs wie HeLa, HEK, Hep-2, KB und Graham[2, 3]. CPE treten bei Adenoviren des Typs 1-7 innerhalb von 2 -7 Tagen auf. Bei anderen Stämmen dagegen, insbesondere bei der Untergruppe D, kann es bis zu 28 Tagen dauern, bis sich erkennbare CPE zeigen[16]. Zur Bestätigung der Identifizierung von Adenoviren in Zellkulturen durch CPE wurden bisher Immunifluoreszenztests, Radioimmunoassays, die DNA-Hybridisierung, Enzymimmunoassays und die DNA-Elektrophorese eingesetzt [17-21]. **Premier Adenoclone** bietet ein einfaches, schnelles und präzises Verfahren, um das Vorkommen von Adenoviren in Zellkulturen zu bestätigen.

Die am zweithäufigsten gefundenen Viren in Stuhlproben oder rektalen Abstrichen von Patienten mit Diarrhoe[22] sind Adenoviren. Diese anspruchsvollen Viren des Typs 40 und 41 wurden erstmals elektronenmikroskopisch in Stuhlextrakten entdeckt und sind am häufigsten mit Gastorenteritis assoziiert[22]. Diese Adenovirus-Typen können in Graham 293 Zellen identifiziert werden[5]. **Premier Adenoclone** kann zur direkten Untersuchung von Stuhlproben eingesetzt werden, und reduziert so die Untersuchungszeit der traditionellen Identifizierung in Zellkulturen.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Premier Adenoclone verwendet monoklonale Antikörper und ist ein Festphasen-Sandwich-ELISA. Mitrotiter-Kavitäten zum Auseinanderbrechen sind mit einem monoklonalen anti-Adenovirus-Antikörper beschichtet. Ein Aliquot der fäkalen Suspension oder der unverdünnten Zellkultur-Flüssigkeit wird in eine Kavität gegeben und gleichzeitig mit einem monoklonalen anti-Adenovirus-Antikörper, der mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist, inkubiert. So entsteht ein „Sandwich'. bei dem das Adenovirus-Antigen zwischen dem Festphasen-Antikörper und dem Enzym-gebundenen Antikörper eingeschlossen ist. Nach 60 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur, werden die Kavitäten mit gereinigtem Wasser gewaschen, urn ungebundenes Probenmaterial und überschüssige Enzym-markierte Antikörper zu entfernen. Enzym-Substrat (Harnstoffperoxid) und Chromogen (Tetramethylbenzidin) werden in die Kavitäten gegeben und 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Gebundenes Enzym-Konjugat in den Kavitäten verwandelt das farblose Substrat in ein blaues Produkt.

REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

1. **Mikrotiter-Kavitäten** beschichtet mit einem monoklonalen Gruppen-spezifischen anti-Adenovirus Antikörper aus Mäusen.
2. **Proben-Verdünnungspuffer / Negativ-Kontrolle**: Phosphat-gepufferte isotone Kochsalzlösung mit 0,02% Thiomersal als Konservierungsmittel
3. **Enzym-Konjugat**: mit Meerrettich-Peroxidase konjugierte monoklonale anti-Adenovirus Antikörper aus Mäusen in einer gepufferten Proteinlösung mit Gentamicin und 0,02% Thiomersal als Konservierungsmittel
4. **Positiv-Kontrolle**: inaktiviertes Adenovirus (AD41) in Puffer mit 0,02% Thiomersal als Konservierungsmittel
5. **Lösung A:** Substrat-Puffer, enthält Harnstoffperoxid
6. **Lösung B.** Lösung mit Chromogen, enthält Tetramethylbenzidin (TMB)
7. **Stopp-Lösung**: enthält 1N Schwefelsäure, Vorsicht Hautkontakt vermeiden, bei Hautkontakt mit Wasser spülen.
8. **Halter für Mikrotiter-Kavitäten**
9. **Transfer-Pipetten fur Proben**

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Reagenzröhrchen (12 x 75 mm)
2. Deionisiertes oder destilliertes Wasser
3. Papiertücher
4. Präzisions-Mikropipettenspitzen für 100 µL oder 1000 µL (wahlweise)
5. Abfallbehälter mit einer 1:10 Verdünnung von Haushaltsbleichmittel; zum Autoklavieren ein Jod-haltiges Desinfektionsmitlel verwenden.
6. ELISA-Plattenphotometer für Extinktionsmessungen bei 450nm (wahlweise)
7. Multikanal-Pipette, Mehrfach-Spritze, Waschflasche oder andere Hilfsmittel zum Einfüllen der Waschlösung
8. Stoppuhr (mindestens für 1 Stunde)
9. Sterile Abstrichtupfer und Virus-Transportmedium (gewöhnlich eine isotone Kochsalzlösung mit einem Virus-stabilisierenden Protein und mit Antibiotika). Das Medium dart weder das Adenovirus noch die Zelllinien im Wachstum hemmen[16].
10. Gegen Adenoviren empfindliche Zellkulturen und ein Lichtmikroskop zur Untersuchung der Kulturen empfindlich. Für das Wachstum von Adenoviren sind die kontinuierlichen Zelllinien epithelialen Ursprungs wie HeLa, HEK, Hep-2, KB und Graham 293[2, 3] Für die Identifzierung von Adenovirus Typ 40 und 41[5] sollten nur Graham 293 Zellen verwendet werden[5].
11. Adenovirus positive Kontroll-Kulturen, z.B. ATCC#VR-2, Adenovirus Typ 2.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermelden.
3. In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen. essen oder trinken.
4. Einmal-Handschuhe während des Umgangs mit Proben tragen und die Hände nach Abschluß des Tests waschen. Patienten-Proben, Test-Kontrollen und alle Materialien, die mit ihnen in Berührung kommen, sollten nach den Biosafety Level 2 -Empfehlungen des CDC/NIH Handbuchs "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories," gehandhabt werden.
5. VORSICHT: Wegen der Anfälligkeit der Augenregion für Adenoviren sollte der Hand-Augen-Kontakt während der Probenvorbereitung und der Testdurchführunig sorgfältig vermieden werden
6. Hautkontakt mit der Stopp-Lösung (1N Schwefelsäure). Sie könnte Irritationen und Verätzungen verursachen. Falls es zu einem Kontakt kommt, mit Wasser spulen,
7. Vor der Entsorgung alle Materialien, die während des Tests benutzt wurden, mindestens eine Stunde bei 121 C autoklavieren. Flüssig-Abfall kann entsorgt werden, nachdem er mindestens 30 Minuten mit einer 1:10 Verdünnung von Haushaltbleichmittel gemischt wurde. VORSICHT: Flussigabfall, der Stopp-Lösung enthält, muß neutralisiert werden, bevor er in Haushaltsbleichmittel gegeben wird.
8. Vermeiden Sie jedes Verspritzen oder Zerstäuben.
9. **Premier Adenoclone** Reagenzien nach Ablauf des Haltbarkeitsdatum nicht mehr verwenden. Jedes Reagenz ist in seiner Konzentration und Zusammensetzung optimiert worden. Verdünnung oder Verfremdung dieser Reagenzien kann zu einem Verlust der Sensitivität führen. Von den Angaben abweichende Inkubationszeiten und Temperaturen können falsche Ergebnisse zur Folge haben.
10. Reagenzien von **Premier Adenoclone** mit unterschiedlichen Chargennummern sollten nicht ausgetauscht oder gemischt werden.
11. Mikrobiellen Befall der Reagenzien vermeiden, er könnte die Ergebnisse verfälschen. Die Kontamination der Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.
12. Bei jeder Handhabung von Zellkulturen aseptische Vorgehensweise und sterile Geräte und Materialien verwenden.
13. Für jede Probe, Kontrolle oder jedes Reagenz sollen gesonderte Pipetten oder Pipetten-Spitzen verwendet werden.
14. Mikrotiter-Kavitäten nicht wiederverwenden.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

Für weitere Informationen zu den Gefahren- und Sicherheitshinweisen, beziehen Sie sich aur die SDS, die unter folgendem Link verfügbar sind: www.meridianbioscience.com (US version) / www.meridianbioscience.eu (EU version).

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Lagern Sie die Test-Reagenzien bei 2-8 C. Vor dem Gebrauch die Test-Reagenzien auf Raumtemperatur (20-30 C) bringen und nach Gebrauch sofort wieder auf 2-8 C abkülhien. Mikrotiter-Platten im Beutel belassen, bis er Raumtemperatur erreicht hat. Alle unbenutzten Mikrotiter-Kavitäten in den Originalbeutel zurücklegen. Nach dem Öffnen sind die Mikrotiter-Kavitäten während der gesamten Haltbarkeitsdauer des Test-Kits Stabil.

ANZEICHEN VON QUALITÄTSMINDERUNG

Die folgenden Umstände können einen Verderb der Reagenzien anzeigen.

1. Jeder offensichtliche mikrobielle Befall oder deutliche Niederschlag
2. Jede Blaufärbung in der Substratlösung, bevor sie den Kavitäten zugesetzt wird.
3. Ein Extinktionswert der Negativ-Kontrolle >0,150 bei einer Wellenlänge von 450 nm kann einen Verfall der Reagenzien anzeigen.
4. Ein Extinktionswert der Positiv-Kontrolle von <0,3 kann einen Verderb der Reagenzien anzeigen.

Wenn eine der obigen Beobachtungen gemacht wird, kontaktieren Sie Meridian Bioscience.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

1. Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen (20-30 C).
2. Sofort nach Gebrauch alle Reagenzien wieder auf 2-8 C abkühlen.
3. Zwischen den Arbeitsschritten die Kavitäten nicht austrocknen lassen.
4. Ein Desinfektions-Gefäß zur Entsorgung von Reagenzien und Materialien bereitstellen.
5. Die Reproduzierbarkeit eines jeden ELISA ist stark von der Gleichförmigkeit des Waschens der Mikrotiter-Kavitäten abhängig. Beachten Sie die in der Anleitung empfohlenen Waschschritte genau.

PROBENNAHME

Die richtige Probennahme ist entscheidend für die Identifizierung von Adenoviren in Zellkulturen und sollte nur von erfahrenem Personal durchgeführt werden. Der beste Zeitpunkt zur Probennahme liegt möglichst bald nach dem Auftreten der Symptome. Adenoviren werden hauptsächlich im Atmungstrakt, im Auge und in rektalen Proben identifiziert, aber sie wurden bereits in praktisch jedem menschlichen Organ gefunden[16]. Der Ort der Infektion sollte gründlich abgestrichen werden, um epitheliale Zellen zu gewinnen. Den Abstrichtupfer direkt in ungefähr 3 mL Virus-Transportmedium geben und kräftig schütteln[16]. Die Proben sollten sofort auf Eis ins Labor geschickt werden gemäß dem 42 CFR (Code of Federal Regulation) 72.

Auch aspiriertes, sezerniertes oder ausgespültes nasopharyngeales Material kann untersucht werden[16]. Es ist gewöhnlich effektiver und angenehmer, 2-5 mL nasopharyngeales Sekret mit einem kleinen Schlauch, der in die Nase des Patienten eingeführt wird und mit einer Proben-Sammelflasche verbunden ist, abzusaugen. Dieses System zur Schleimgewinnung gibt es als Fertigprodukt zu kaufen. Wenn die Nasensekrete nicht ausreichen, können Spülungen der Nase mit 1-2 mL steriler Kochsalzlösung durch das Nasenloch durchgeführt werden. Ein Minimum von 0,2 mL Sekret sollte gewonnen werden. Rektale Abstriche oder Stuhlproben, die angezüchtet werden sollen, sollten in 1 ml Virus-Transportmedium gebracht werden. Bei rektalen Abstrichen sollte darauf geachtet werden, daß genügend fäkales Material (30-50 mg reiner Stuhl) abgenommen wird.

Alle Proben sollten bei 2-8 C auf Eis gelagert und nicht eingefroren werden, außer, wenn eine Verzögerung von 72 Stunden bis zu dem Animpfen der Kultur abzusehen ist. In solchen Fällen sollten die Proben schnell in einem Bad mit Trockeneis und Aceton oder Alkohol eingefroren werden und bei -20 C oder kälter bis zu einem Monat lang eingefroren werden. Vermeiden Sie ein langsames Einfrieren (z.B, indem die Proben in ein-20 C Gefriergerät gelegt werden), da dadurch die Infektiosität der Adenoviren in klinischen Proben verloren gehen kann. Proben nicht in einem selbstabtauenden Gefriergerät lagern. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben. Wenn die Stuhlproben direkt untersucht werden sollen: Stuhlproben oder rektale Abstriche sollten nicht in Gefaße mit Nährmedien. Konservierungsmitteln, Tierseren, Metallionen, oxidierenden Stoffen oder Detergenzien überführt werden, da diese den **Premier Adenoclone** -Test beeinträchtigen könnten. Bei rektalen Abstrichen sollte darauf geachtet werden, daß genügend fäkales Material (30 bis 50 mg) erhalten wird. Verdünnte Proben können bei 2-8 C 3 Tage lang ohne Beeinträchtigung der Testergebnisse gelagert werden. Für die langfristige Lagerung unverdünnter Proben wird eine Temperatur von-20 C oder kälter empfohlen. Nicht in selbstabtauenden Gefrierschränken lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

VORBEREITUNG DER PROBEN ZUR KULTIVIERUNG IN ZELLKULTUREN

Gegenüber dem Wachstum von Adenoviren Empfindliche Zellkulturen sind die kontinuierlichen Zelllinien epithelialen Ursprungs wie HeLa, Hep-2, KB und Graham 293[2, 3]. Für die Identifizierung von Adenoviren Typ 40 und 41 sollten nur Graham 293 Zellen verwendet werden[5]. Verschiedene Zelllinien zeigen wie die verschiedenen Passagen derselben Zelllinie stark abweichende Virus-Sensitivitäten. Jedes Labor sollte seine eigenen Qualitätskontroll-Verfahren entwickeln. um die Eignung der Gewebekulturzellen für die routinemäßige Virus-Anzucht sicherzustellen.

Abstriche, die in Virus-Transportmedium eintreffen, solten stark geschüttelt werden; die Abstrichtupfer sollten durch starkes Pressen an die Wand des Gefaßes ausgedrückt werden. In empfindliche Zellkulturen einimpfen[16]. Getrocknete Abstriche können zur Virus-Identifizierung nicht angenommen werden.

Alle aspirierten, sezernierten oder ausgespülten Proben sollten mit der Pipette kräftig vermischt werden, um eine homogene Suspension zu erhalten. Die Suspension sollte dann mit Antibiotika behandelt werden und in eine empfindliche Zellkultur eingeimpft werden[16, 26, 27].

Stuhlproben können entweder direkt eingesetzt (siehe "Testdurchführung") oder zur Identifzierung in Zellkulturen vorbereitet werden. In letzterem Fall wenige Gramm des fäkalen Materials in einem Mörser mit sterilem Sand oder anderem Schleifmittel mahlen. Stellen Sie mit einem Antibiotium-haltigen Verdünnungsmittel (z.B. Kulturmedium) eine 10%ige Suspension her. Abzentrifugieren und in Graham 293 Zellen einimpten[16].

Die Entwicklung von Adenovirus-typischen zytotoxischen Effekten (CPE) in den beimpften Zellkulturen sollte idealerweise täglich kontrolliert werden. Die Zellen der mit Adenoviren infizierten Zellschicht vergroßern sich, runden sich ab, werden lichtbrechend und klumpen eventuell zu unregelmäßigen traubenförmigen Aggregaten zusammen. Diese Veränderungen sind im allgemeinen mit einer Ansäuerung des Kulturmediums verbunden. Die Zeitspanne bis zur Entwicklung von CPE hängt vom Adenovirus-Stamm und von der Konzentration des infektiösen Virus in der Probe ab. Bei den Adenoviren des Typs 1,2,3,4,5,6 und 7 treten CPE gewöhnlich innerhalb von 2 - 7 Tagen auf. Bei anderen Adenovirus-Stämmen, insbesondere bei denjenigen der Gruppe D. können bis zu 28 Tage und eventuell sogar eine ganze Passage ohne CPE nötig sein, bevor sich erkennbare CPE bilden[16]. Adenoviren sollten dann als identifiziert betrachtet werden, wenn mindestens 25% der Zellen in der Zellkultur von CPE betroffen sind.

VORBEREITUNG

Untersuchung von Proben in Gewebekultur

Wenn die Gewebekultur mindestens 25-50% CPE zeigt, mit der Transferpipette 2 Tropfen (100 µL) der Gewebekultur direkt in die Mikrotiter-Kavität geben. GEWEBEKULTUREN NICHT VERDÜNNEN.

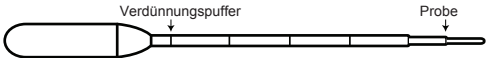
Direkte Untersuchung von Stuhlproben

1 mL Proben-Verdünnungspuffer mit einer Transfer-Pipette in eln sorgfältig beschriftetes Röhrchen geben. Die Proben wie folgt dazugeben:

1. Fester Stuhl: Probe bis zur ersten Markierung in die Transfer-Pipette drücken (siehe Abbildung unten).
2. Flüssiger Stuhl: Probe mit der Transfer-Pipette bis zur ersten Markierung hochziehen (siehe Abbildung unten).
3. Rektaler Abstrichtupfer. Tupfer in 1 mL Proben-Verdünnungsputter quirlen, so daß das fäkale Material gelöst wird. Flüssigkeit aus dem Tupfer durch festes Drücken an die Wand des Röhrchens auspressen, Sorgfältig mischen. *Nicht weiter verdünnen*.

Probe in 1 mL Probenverdünnungspuffer durch heftiges Aufziehen und wieder Ausdrücken der Lösung aufsuspendieren, bis eine weiter zu verarbeitende Lösung entsteht.

Transferpipetten für Proben



Mit der Transferpipette 2 Tropfen entweder der unverdünnten Gewebekultur oder der verdünnten Stuhlprobe in die Kavitäten geben. Einzelheiten siehe "Testdurchführung".

TESTDURCHFÜHRUNG

1. Eine ausreichende Zahl von Kavitäten für Proben und Kontrollen abbrechen und in den Halter für die Kavitäten einsetzen. Die Plätze der Proben notieren.
2. Je 2 Tropfen (100 µL) von der verdünnten fäkalen Probe, der Positiv- und der Negativ-Kontrolle (Proben-Verdünnungspuffer) auf den Boden der Kavitäten geben.
3. In jede Kavität 2 Tropfen (100 µL) Enzym-Konjugat geben. Durch vorsichtiges Bewegen auf der Tisch-Oberfläche mischen.
4. Bei Raumtemperatur (20-30 C) 60 ±5 Minuten inkubieren.
5. Die Flüssigkeit aus den Kavitäten in einen Abfallbehälter auskippen. Den Kavitäten-Halter umgedreht auf Papiertuchern kräftig ausklopfen, um sicher zu gehen, daß die Flüssigkeit vollständig aus den Kavitäten entfernt wurde.
6. Alle Kavitäten bis zum Überfließen mit deionisiertem Wasser füllen und die Flüssigkeit wie in Schritt 5 ausgießen.
7. Den Waschvorgang (Schritt 5 und 6) vier weitere Male durchführen (insgesamt also 5 Waschvorgänge).
8. 2 Tropfen (100 µL) Substrat-Lösung in jede Kavität geben.
9. 2 Tropfen (100 µL) Chromegen-Lösung in jede Kavität geben.
10. 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
11. Nach dem Ablesen und Notieren der Ergebnisse die benutzten Kavitäten und das benutzte Papier als potentiell pathogen entsorgen.

Das Ablesen des Ergebnisses mit bloßem Auge ist nach der 10 Minuten Inkubation in Schritt 10 innerhalb von 10 Minuten möglich. Proben mit einer Blaufärbung, die dunkler als die der Negativ-Kontrolle ist, sind positiv. Proben, die die gleiche oder eine schwächere Blaufärbung als die Negativ-Kontrolle aufweisen, sind negativ.

WAHLWEISE: SPEKTROPHOTOMETRISCHE AUSWERTUNG

Spektrophotometrische Auswertungen können durchgeführt werden, indem 2 Tropfen (100 µL) Stopp-Lösung (Schwefelsäure) in jede Kavität nach der Inkubation von Schritt 10 gegeben werden. Die Extinktion jeder Kavität wird bei 450 nm (gegebenenfalls mit einem Referenzfilter >600 nm) nach einem Abgleich gegen Luft innerhalb von 60 Minuten abgelesen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

1. **Auswertung mit dem bloßen Auge:** jede Probe mit einer blauen oder im Vergleich zur Negativ-Kontrolle intensiveren Farbe wird als positiv betrachtet Jede Probe mit einer Farbe, die im Vergleich zur Negativ-Kontrolle gleich oder weniger intensiv gefärbt ist, wird als negativ betrachtet.
2. **Spektrophotometrische Bestimmung:** Proben mit einem Extinktionswert (A_{450}) > 0,150 werden als positiv betrachtet. Proben mit einer Extinktion ≤0,150 oder niedriger werden als negativ betrachtet. Bei Proben mit geringen Antigen-Mengen können die Ergebnisse aus der spektrophotometrischen Bestimmung gelegentlich von den Auswertungen mit bloßern Auge abweichen Die spektrophotometrische Bestimmung ist die objektivere und daher die etwas genauere Methode.

ACHTUNG: in stark positiven Proben können sich Niederschläge bilden. Diese beeinflussen die Ergebnisse nicht.

QUALITÄTSKONTROLLE

Den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. Zulassungsbehördlichen Auflagen durchführen.

Premier Adenoclone wird mit Positiv-Kontrolle und einer Negativ-Kontrolle (Proben-Verdünnungspuffer) geliefert, die bei jedem Testlauf mitlaufen müssen. Diese Reagenzien werden eingesetzt, um die Funktionsfähigkeit der Test-Reagenzien sicherzustellen. Die Kavität der Positiv-Kontrolle sollte deutlich blaus sein mit einer Extinktion >0,30 bei einer Wellenlänge von 450 nm. Die Negativ-Kontrolle dart keine sichtbare Farbe haben, die Extinktion muß <0,150 bei einer Wellenlänge von 450 nm sein.

Bei der Identifizierung von Adenoviren aus Zellkulturen können zusätzlich zu den Positiv- und Negaliv-Kontrollen des Test-Kits zwei weitere Kontrollen zur Überprüfung des im jeweiligen Labor benutzten Gebebekultur-Systems durchgeführt werden. Diese Kontrollen stellen sicher, daß das Gewebekultur-System einwandfrei funktioniert:

- Als Negativ-Kontrolle kann der nicht infizierte Zellüberstand von derselben Charge, die zur Identifizierung des Virus eingesetzt wird, benutzt werden.
- Als Positiv-Kontrolle kann der infizerte Zellüberstand einer bekannt Adenovirus-positiven Probe (25%CPE oder mehr) benutzt werden.

Die Kavität mit dem nicht infizierten Zellüberstand sollte farblos mit einer Extinktion <0,150 bei 450 nm sein. Der infizierte Zellüberstand einer bekannt positiven Probe sollte sich blau färben. Die Extinktion bei 450 nm hängt stets vom Infektionsgrad ab ab und sollte jedoch >0,150 sein.

Wenn die Ergebnisse der Positiv- und Negativ-Kontrolle des Test-Kits nicht wie erwartet ausfallen. setzen Sie den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Ausliefere. Wenn die Positiv- und Negativ-Kontrollen des Test-Kits zufriedenstellende Ergebnisse liefern, nicht jedoch die Gewebekultur-Kontrellen, müssen die Zelllinien und ihre Verarbeitung überprüft werden.

ERWARTETE WERTE

Die Rate positiver Ergebnisse kann in Abhängigkeit der geographischen Lage, der Methode zur Probennahme, -handhabung und des -transports, dem benutzten Zellkultur-System oder dem eingesetzten Test sowie der allgemeinen Gesundheitsbedingungen der untersuchten Patientenpopulation variieren.

Die Häufigkeit der Adenovirus-Infektion hängt ab von den klinischen Symptomen und dem Alter der Patienten. Bei Kindern unter 5 Jahren werden 5% der akuten Atemwegserkrankungen von Adenoviren verursacht[6].

Ungefähr 10% der kindlichen Lungenentzündungen können auf Adenoviren zurückgeführt werden[7]. Die akute hämorrhagische Zystitis bei Kindern wird durch Adenoviren in 20 - 70% der Fälle ausgelöst[8, 9]. Intestinale Adenoviren (Typ 40 und 41) werden bei rund 10% der pädiatrischen Patienten mit einer Gastroenteritis gefunden und kommt am häufigsten bei Kindern unter 2 Jahren vor[10]. Die Testcharakteristika für die Untersuchung von Neugeborenen-Stuhlproben sind bisher noch nicht vollständig erstellt worden. In jedem einzelnen Labor sollte das Fehlen falsch positiver Ergebnisse überprüft werden, bevor Neugeborenen-Stühle direkt untersucht werden.

Bei Erwachsenen wurden Adenoviren zeitweise mit Zervizitis in Zusammenhang gebracht[4] sowie mit akuten Atemwegserkrankungen - insbesondere bei Rekruten[11]. Augeninfektionen wie die durch Adenoviren verursachte epidemische Keratokonjunktivitis und die sogenannte "swimming pool"-Konjunktivitis können in jeder Altersgruppe[12, 13] auftreten. Darüberhinaus könnnen sich alle immunsupprimierten Patienten mit Adenoviren infizieren[14, 15].

EINSCHRÄNKUNGEN

Premier Adenoclone ist hochspezifisch und -sensitiv für Adenovirus-Antigen, Der monoklonale Antikörper dieses Tests reagiert mit dem Gruppen-spezifischen Hexon-Antigen. Er erkennt alle 41 bekannten Serotypen, aber kann nicht zu ihrer Differenzierung eingesetzt werden.

Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Adenovirus-Infektion des Patienten nicht aus. Ein Mißlingen des Nachweises kann bedingt sein durch Faktoren wie einem ungünstigen Zeitpunkt der Probennahme (wenn zu wenig Virionen vorhanden sind) oder einer falschen Probennahme oder -handhabung oder einem Versagen der Zellkultur. Durch ein negatives Ergebnis bei Stuhlproben kann eine infektion anderer Körperflüssigkeiten mit nicht-intestinalen Adenoviren nicht ausgeschlossen werden. Bei Verdacht auf Infektion des Atmungstraktes oder der Augen sollten Proben vom Infektionsort in Kultur genommen werden.

Alle positiven Ergebnisse müssen vorsichtig interpretiert werden, da Adenoviren zur Latenz und zu Rezidiven fähig sind. Die asymptomatische Ausscheidung kann bis zu 18 Monate nach der Infektion andauern[24]. Intestinale Adenoviren können im Stuhl von Beschwerde-freien Kindern gefunden werden[23]. Die Testergebnisse sollten in Zusammenhang mit den Informationen aus epidemiologischen Studien, klinischen Erhebungen oder anderen diagnostischen Verfahren interpretiert werden[24]. Begleitinfektionen mit bakteriellen Keimen sind möglich. Daher sollten bakteriologische Tests parallel zu diesem Test durchgeführt werden, um eine bakteriologische Ätiologie auszuschließen.

Der direkte Einsatz von **Premier Adenoclone** bei anderen Probenmaterialien als Stuhlproben ist nicht zu empfehlen, da ein unpassendes Antigen oder eine falsche Probennahme negative Ergebnisse verursachen Kann. Dieser Test ist für die Identifizierung aus Zellkulturen oder aus direkten Stuhlproben geeignet Ein positives Ergebnis im Stuhl bei gleichzeitiger Diarrhoe ist ein nahezu eindeutiger Hinweis auf eine adenovirale Gastroenteritis[10]. Am häufigsten wurden Adenoviren des Typs 40 und 41 mit der viralen Gastroenteritis in Zusammenhang gebracht.

Falsch positive Ergebnisse könnten bei einer hohen Konzentration eines *S. aureus* mit Protein A (z.B. des Cowan Stamma) auftreten. Die *Staphylokokken-Enterokolitis* ist eine ungewöhnliche Erkrankung, die hauptsächlich bei Erwachsenen und nur extrem selten bei Säuglingen und Kindern[25, 26] beobachtet wurde.

LEISTUNGSMERKMALE

Premier Adenoclone wurde in vier klinischen Labors der USA (in New York, Kalifornien und Massachusetts) zur Bestätigung des Tests mit Zellkulturen und der direkten Testdurchführung mit Stuhlproben überprüft. Die Ergebnisse des **Premier Adenoclone** wurden mit der Untersuchung zytotoxischer Effekte (CPE) in Zellkulturen und der Elektronenmikroskopie in Stuhlproben verglichen. Der **Premier Adenoclone** Test schnitt im Vergleich mit beiden Testmethoden ausgezeichnet ab.

		Site I		Site II		Site III		Site IV	
Bestimmungsmethode*		S Zellkultur		S, V Stuhlsuspension		V Zellkultur		S, V Zellkultur	
		+	-	+	-	+	-	+	-
Premier Adenoclone®	+	75	0	70	0	22	0	23	0
	-	0	115	1	160	0	51	1	49
Sensitivität		100%		99%		100%		96%	
Spezifität		100%		100%		100%		100%	
Übereinstimmung		100%		99%		100%		99%	

*S=Spektophotometrische Ausertung; V: Visuelle Auswertung

WICHTIG: Es bestand eine 100%-ige Übereinstimmung zwischen der spektophotometrischen und der visuellen Auswertung.

NACHWEISGRENZEN
STUHLSUSPENSION
Vier Adenovirus positive Stuhlproben, deren Konzentration pro mL durch EM bestimmt wurde, wurden in Verdünnungsreihen mit dem **Premier Adenoclone** getestet, um die Nachweisgrenzen festzustellen. Die Ergebnisse zeigen, daß Konzentrationen bis zu einer unteren Grenze von 10^7 pro mL von **Premier Adenoclone** nachgewiesen werden können.

	Nicht enterogen Stuhl 1	Nicht enterogen Stuhl 2	Ad 41 Stuhl 3	Ad 40 Stuhl 4
Partikel/ mL	A_{450}	A_{450}	A_{450}	A_{450}
10^8	1.78	-	-	-
10^7	.26*	>2.00	>2,00	-
10^6	.04	1.06	>2,00	>2.00
10^5	.03	.17*	1.73	>2.00
10^4	-	.04	.21*	.58*

ZELLKULTUTEN
Die folgende Tabelle zeigt Verdünnungsreihen von verschiedenen Adenovirus Überständen aus 3+ CPE Kulturen, die mit dem **Premier Adenoclone** Adenovirus Kit getestet wurden. Sternchen zeigen die relative Sensitivität von **Premier Adenoclone** in Bezug auf den Adenovirus Serotyp, der getestet wurde. Es zeigte sich, daß der monoklonale Antikörper, der in **Premier Adenoclone** verwendet wird, mit allen humanen Subgruppierungen ebenso wie mit Isolaten, die Affen, Hunde. Hunde, Rider und Schweine infizieren, reagiert.

	TYP A			TYP B			TYP C			
	AD12	AD18	AD31	AD3	AD7	AD21	AD1	AD2	AD5	AD6
1:10	>3.0	>3.0	>3.0	1.78	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0
1:100	2.13	0.64*	2.09	0.49*	>3.0	2.36	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0
1:1000	0.21*'	0.05	0.15*	0.09	1.56	0.24	>3.0	1.67	0.57	2.52
1:2000	0.08	0.02	0.06	0.05	0.71*	0.08	1.66	0.70	0.23*	1.26
1:4000	0.04	0.01	0.03	0.04	0.15	0.04	0.65	0.19*	0.12	0.60
1:8000	0.02	0.02	0.02	0.03	0.07	0.02	0.22*	0.11	0.06	0.35
1:16000	0.02	0.02	0.02	0.02	0.07	0.02	0.11	0.07	0.03	0.19*

	TYP D				TYP E	ENTERISCHER TYP	
	AD9	AD22	AD37	AD39	AD4	AD40	AD41
1:10	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0	>3.0
1:100	2.75	2.44	2.62	2.28	>3.0	2.40	>3.0
1:1000	0.24*	0.22*	0.25*	0.15*	1.60	0.26*	0.73
1:2000	0.11	0.09	0.09	0.07	0.94	0.15	0.27*
1:4000	0.05	0.04	0.06	0.03	0.46	0.08 -	0.12
1:8000	0.05	0.03	0.02	0.02	0.25	0.06	0.06
1:16000	0.02	0.02	0.02	0.02	0.15*	0.05	0.04

*Nachweisgrenzen

REPRODUZIERBARKEIT
Innerhalb eines Testlaufs
Jede Probe* wurde einundzwanzig Mal in einem Testlauf analysiert und der Durchschnitt und Koeffzient der Variationen berechnet.

	Neg Stuhl	Stuhl 1	Stuhl 2	Stuhl 3
N	21	21	21	21
$\bar{x}$	0.012	0.232	0.744	1.713
CV	56%	10%	14%	8%
	Neg Kultur	**Kultur 1**	**Kultur 2**	**Kultur 3**
N	21	21	21	21
$\bar{x}$	0.017	0.181	0.418	1.318
CV	35%	6%	7%	7%

*Eine positive Probe wurde in einer 5%-igen Stuhlsuspersion und in Zellkulturflüssigkeit verdünnt, um eine niedrige (nahe der Bestimmungsgrenze), eine mittlere und eine hohe Probe zu ergeben.
Zwischen den TestlNuten
Jede Probe wurden einzein in einundzwanzig verschiedenen Testläufen untersucht und der Durchschnitt und Koeffizient der Variation berechnet.

	Neg Stuhl	Stuhl 1	Stuhl 2	Stuhl 3
N	21	21	21	21
$\bar{x}$	0.026	0.129	0.474	0.990
CV	48%	9%	12%	10%
	Neg Kulture	**Kulture 1**	**Kulture 2**	**Kulture 3**
N	21	21	21	21
$\bar{x}$	0.017	0.198	0.508	1.547
CV	59%	10%	10%	9%

*Eine positive Probe wade in einer 5%-igen Stuhlsuspersion and in tellkulturfifissigkeit verd5nnt, um sine niedrige (nahe der Bestimmungsgrenze), eine mittlere und eine hake Probe zu ergeben.

KREUZREAKTIVITÄT
Die folgenden Mikroorganismen und Viren wurden im **Premier Adeaoclone** getestet und zeigten keine Kreuzreaktionen. Alle Kreuzreaktionstests verwendeten gezüchtete Kulturen, die eine geschätzte Konzentration von 10^7-10^9 Erregern pro ml enthielten. Ausnahmen: Calcivirus, SRV, Rotavirus, Norwalkvirus and Astrovirus wurden als durch EM positive Stuhlproben getestet; *Clostridium difficile wurde als Toxin positiv* getestet. Stuhl und Urin wurde getestet und als negativ eingestuft.

Mikroorganismen

Pseudomonas aeruginosa	*Staphylococcus aureus* (Cowan)*	*Mycoplasma arginini*
Enterobacter aerogenes	*Clostridium difficile*	*Mycoplasma hominus*
Enterobacter cloacae	*Candida albicans*	*Mycoplasma hyorthinis*
Klebsiella pneumoniae	*Proteus mirabilis*	*Mycoplasma orale*
Serratia marcescens	*Acholeplasma laidlawii*	*Mycoplasma pneumoniae*
Escherichia coli		

Viren

Coxsackievirus A-9	Rhinovirus 3	Echovirus 6
Coxsackievirus B-3	Rhinovirus 17	Echovirus 7
Coxsackievirus B-4	Rhinovirus 43	Echovirus 9
Coxsackievirus B-5	Varicella zoster	Echovirus 11
Poliovirus I	Chlamydia trachomatis	Echovirus 17
Poliovirus II	Simian foamyvirus 2	Echovirus 18
Poliovirus III	Simian foamyvirus 8	Echovirus 22
Human Coronavirus	Measles	Herpes simplex 1
Reovirus 1	Respiratory Syncytial virus	Herpes simplex 2
Reovirus 2	Cytomegalovirus	Small round virus (SRV)
Reovirus 3	Influenza A	Rotavirus
Parainfluenza-1	Influenza B	Norwalk virus
Parainfluenza-2	Calicivirus	Astrovirus
Parainfluenza-3	Papovavirus SV-40	Myxoviruses-Paramyxovruses SV-5

* Falsch positive Ergebnisse konnten mit hohen Werten von *S. aureus* , das Protein A enthält, wie z. B. dem Cowan Stamm, erzieit werden. Durch *Staphylokokken* ausgelöste *Enterocolitis ist* eine seltene Krankheit, die gewöhnlich bei erwachsenen Patienten auftritt und bei Säuglingen und Kindern extrem selten ist [25, 26].

REFERENCES

1. Cepko CL, Whetstone CA, and Sharp PA. Adenovirus hexon monoclonal antibody that is group specific and potentially useful as a diagnostic reagent. J Clin Microbiol 1983;17:360-364.
2. Herrmann JE, Perron-Henry DM, Stobbs-Walro D, and Blacklow NR. Preparation and characterization of monoclonal antibodies to enteric adenovirus types 40 and 41. Arch. Virology, 94:259-265, 1987.
3. Horwitz MS. Adenoviral Diseases. In B.N. Fields, ed. Virology, Raven Press, New York, pp. 477-495.
4. Laverty CR, Russell P, Black J, Kappagoda N, Benn RAV, and Booth N. Adenovirus infection of the cervix. Acta Cytol. 21114-117, 1977.
5. Takiff HR, Straus SE, and Garon CF. Propagation and *in vitro* studies of previously non-cultivatable enteric adenoviruses in 293 cells, Lancet 11:832-834, 1981.
6. Brandt CD, Kim HW, Vargosdo AJ, Jeffries BC, Arrobio J0, Rindge B, Parrott RH, and Chanock RM. Infections in 18,000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. I. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and Illness syndrome. Am J Epidemiol 1969;90: 484-500.
7. Mallet R, Riberre M, Bonnenfant F, Labrune B, and Reyrole L. Les pneumopathies graves a adeno-virus. Arch. Fr. Pediatr. 23:1057-1073,1966.
8. Mufson MA, Belshe RB, Horrigan TJ, and Zollar LM. Cause of acute hemorrhagic cystitis in children. Am J Dis Child 1973;126:605-609.
9. Numazaki Y, Kumasaka T, Yano N, Yamanaka M, Miyazawa T, Takai S, and Ishida N. Further study of acute hemorrhagic cystitis due to adenovirus type 11. N Engl J Med 1973;289:344-347.
10. Uhnoo I, Wadell G, Svensson L, Johansson ME. Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children J Clin Microbiol 1984;20:365-372.
11. Mcgabgab WJ. *Mycoplasma pneumonia* and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel, 1959-1966. Am. Rev. Respir. Dis., 97:345-358, 1968.
12. Kemp MC, Hierholzer JC, Cabradilla CP, and Obijesti JF. The changing etiology of epidemic keratoconjunctivitis: Antigenic and restriction enzyme analysis of adenovirus types 19 and 37 isolated over a 10 year period. J Infect Dis 1983;148:29-33.
13. Foy HM, Cooney MK, and Hatlen JB. Adenovirus type 3 epidemic associated with intermittent chlorination of a swimming pool. Arch. Environ. Health. 17:795-802, 1968.
14. De Jong PJ, Valderrama G, Spigland I, and Horwitz MS. Adenovirus isolates from the urines of patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Lancet 1:1293-1296, 1983.
15. Siegel RP, Kikman SH, Arayata RB, and Bottone EJ. Fatal disseminated adenovirus 11 pneumonia in an agammaglobulinemic patient. Am J Med 1981;71:1062-1067.
16. Lennette EH, Schmidt NJ. Diagnostic Procedures for Viral Rickettsiai and Chlamydial infections, Fifth edition, 1979, American Public Health Associates, Inc., Washington, D.C., pp 241-242, pp 229-255.
17. Darougar S, Walpita P, Thaker U, Viswalingam N, and Wishart MS. Rapid culture test for adenovirus isolation. Br J Opthalmol 1984;68:405-408.
18. Gomel SA, Nascimento JP, Siquiera MM, Krawczuk MM, Pereira HG, and Russel WC. In situ hybidization with biotinylated DNA probes: a rapid diagnostic test for adenovirus upper respiratory infections. J Virol Methods 1985;12:105-110.
19. Kidd AH, Harley EH, and Erasmus MJ. Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by dot-blot hybridization. J Clin Microbial 1985;22:934-939.
20. Lehtomaki K, Julkunen I, Sandelin K, Salonen J, Virtanen NL, Ranki M, and Hoyt T. Rapid diagnosis of respiratory infections in young adult men. J Cliff Microbial 1986;24:108-111.
21. Shuster V, Matz B, Wiegand H, Traub B, and Neumann-Haefelin D. Detection of herpes simplex virus and adenovirus DNA by dot-blot hybridization using *in vitro* synthesized RNA transcripts. J Viral Methods 1986;13:291-299.
22. Lennette EH, Schmidt NJ. Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamydial infections, Fifth edition,1979, American Public Health Associates, Inc., Washington, D.C., pp 942-943.
23. Cukor G, and Blacklow NR. Human viral gastroenteritis. Microbiological Reviews. 48:157-179,1984.
24. Greenburg SS, and Krilov L. Laboratory diagnosis of viral respiratory disease. Cumitech No. 21, ASM Drew, W.L., Rubin, S.J. editors, March 1986.
25. Gutman LT, Idriss ZH, Gehlbach S, Blackman L. Neonatal *staphylococcal enterocolitis;* Association with indwelling feeding catheters and *S.aureus* colonization. J Pediatr 1976;88:836-839.
26. Hay P, and McKenkie P. Side effects of oxytetracyline therapy. Lancet 1:945-950. 1954.
27. Lennette EH, Schmidt NJ. Diagnostic procedures for viral rickettsial and chlamydial Infections, Fifth edition, 1979, American Public Health Associates, Inc., Washington, D.C., p. 81.

CE

SN11246 **REV. 01/15**

Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
USA/Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244
Telephone: 513.271.3700
Orders/Customer Service:
800.543.1980
Technical Support Center:
800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124

EC REP
Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe S. r. L
Via dell' Industria, 7
20020 Villa Cortese, Milano
ITALY
Tel: +39 0331 43 36 36
Fax: +39 0331 43 36 16
Email: info@meridianbioscience.eu
WEB: www.meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.
2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud
BELGIUM
Tel: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe France
34 rue de Ponthieu - 75008 Paris
FRANCE
Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe b.v.
Postbus 301 - 5460 AH Veghel
NETHERLANDS
Tel: +31 (0) 411 62 11 66
Fax: +31 (0) 411 62 48 41
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symbols, Guia de simbolos, Erläuterung der graphischen symbole)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL −	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
CE	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünngspuffer befindet
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer	0°C	Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD reservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
Σ	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone/ Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration: 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
		DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.