

Cepas de EHEC productoras de citotoxina ST fueron aisladas a partir de dos de cinco de las muestras de caldo con resultado Premier EHEC positivo/citotoxina negativa: una O157:H7 y una O111:NM. Las 22 muestras con resultado Premier EHEC positivo/citotoxina positiva (cepas productoras de EHEC) comprendieron 13 muestras O157:H7, tres O6:H no tipificables, una O no tipificable :H12, 41w ó 51, y una O111:NM productora de citotoxina ST. En las cuatro muestras restantes de cultivo en caldo no se aisló ningún organismo.

*Los intervalos de Confianza del 95% fueron calculados por el método normal como se indica entre paréntesis.
** La prueba PCR es una herramienta diagnóstica que no está indicada para uso diagnóstico *in vitro*.

Varios organismos productores de enterotoxina *E. coli* ST fueron analizados en el test EUA; éstos fueron procesados por el método de cultivo en agar y en caldo nutritivo (ver Preparación de la Muestra parte B y parte C). Cada cepa ha sido aislada a partir de una muestra clínica, y cada una fue analizada por un ensayo para citotoxina y por una eracción en cadena de la polimerasa (PCR), con el objeto de confirmar la presencia del gen ST. Todos los organismos que fueron analizados de esta manera generaron resultados positivos. El número entre paréntesis representa el número de cepas diferentes analizadas dentro de ese tipo de grupo. Además, el tipo de toxina producida por cada cepa como es indicado.³

Tipo de Cepa	Tipo ST	Tipo de Cepa	Tipo ST
O157:H7 (3)	I	O91:H21 (1)	II
O157:H7 (7)	II	O146:H21 (1)	I
O157:H7 (9)	I & II	O137:H41 (1)	I & II
O111:NM (3)	I & II	O111:H8 (1)	I & II
OX3:H21 (1)	II	O50:H7 (1)	I
O4:NM (1)	I & II	O145:NM (2)	II
O165:H25 (1)	II	O103:H2 (1)	I
O165:H25 (1)	I & II	O125:NM (2)	I
O45:H2 (1)	I	O26:H11 (1)	I
O126:H27 (1)	I	O5:NM (3)	I
O121:H19 (1)	I & II	O171:NM (1)	II

REPRODUCIBILIDAD

Variabilidad dentro de la misma prueba - diez réplicas de dos muestras positivas de caldos de cultivo, y dos muestras conocidas de materia fecal positiva fueron analizadas en una prueba.

Muestra	Abs. Media _{450/630}	D.E.	CV %
Caldo #1	0,362	0,013	3,5
Caldo #2	1,920	0,094	4,9
Materia fecal #1	0,317	0,010	3,1
Materia fecal #2	0,774	0,032	4,2

Variabilidad entre prueba y prueba - diez réplicas de dos muestras positivas y conocidas de caldos de cultivo, y una muestra negativa de caldo de cultivo fueron corridas en tres días separados. Este protocolo fue repetido utilizando una muestra de materia fecal negativa y dos positivas.

Muestra	Abs. Media _{450/630}	D.E.	CV %
Caldo #1	0,369	0,032	8,7
Caldo #2	1,546	0,293	18,9
Caldo #3	0,074	0,007	9,2
Materia fecal #1	0,335	0,027	8,1
Materia fecal #2	0,818	0,079	9,6
Materia fecal #3	0,058	0,007	11,4

REACTIVIDAD CRUZADA

La especificidad del test EUA Premier EHEC fue analizada utilizando los aislados clínicos (AC) o cepas ATCC aquí anotados. Cada cepa fue analizada directamente en el test EIA mediante el método en plato utilizando el procedimiento de colonia aislada (ver Preparación de la Muestra parte B). Cada una de las cepas dio un resultado negativo al ser analizadas de esta manera. En un estudio adicional, las cepas bacterianas fueron añadidas ya sea a una sola muestra de materia fecal positiva para EHEC, o a una sola muestra de materia fecal negativa para EHEC, a una concentración aproximada de $2,4 \times 10^5$ UFC/mL. Todos los aislados clínicos (AC) o cepas ATCC listados a continuación dieron un resultado negativo en el análisis directo de la muestra. Además, las siguientes cepas no alteraron los resultados esperados cuando fueron añadidas a una muestra de materia fecal positiva o negativa para EHEC.³

Descripción	Descripción	
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Prevotella bivia</i>	ATCC 29303
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 6380
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	ATCC 9886
<i>Campylobacter lari</i>	<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 33672
<i>Candida albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 6570
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 6571
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella</i> Group B	CI
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella hilversum</i> (Grp N)	ATCC 15784
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Salmonella minnesota</i>	ATCC 9700
<i>Escherichia coli</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	CI
<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC 11456
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Escherichia hermanii</i>	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	ATCC 12598
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CI
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	<i>Streptococcus faecalis</i>	CI
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CI
<i>Nocardia asteroides</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9	ATCC 55075

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Los límites de detección para ST-I y ST-II son 7 y 15 pg/pocillo respectivamente.

DEUTSCH



Enzymimmunoassay zum Nachweis von Toxinen, die von enterohämorrhagischen *E. Coli* in Stuhlproben oder Kulturen produziert werden

REF 608096

IVD In-Vitro-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK

Der Premier EHEC-Test ist ein schneller *in vitro* Mikrotiter-ELISA zum Nachweis von Shiga Toxinen I und II (Verzotoxinen) aus Stuhlproben, aus Flüssig-Nährböden oder aus Einzelkolonien oder Koloniestrichen von Agarplatten. Der Premier EHEC-Test soll die Diagnosestellung bei Infektionen mit enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) unterstützen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Enterohämorrhagische *E. Coli* (EHEC) wurden aus Patienten mit hämorrhagischer Kolitis und hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS) isoliert.^{5, 8, 14} Bis heute ist der *E. coli* Serotyp O157:H7 der am häufigsten gefundene EHEC-Stamm im Stuhl dieser Patienten.^{9, 13} Dies ist vermutlich auf die Tatsache zurückzuführen, daß die herkömmlichen diagnostischen Strategien wie die O157-LateX-Agglutinationstests auf der einzigartigen Fähigkeit dieses Stammes Ur Sorbit-negativen Fermentation beruhen.^{2, 9, 13, 14} Das Hauptproblem dieses Ansatzes ist, daß mindestens 50 weitere EHEC-Serotypen mit der hämorrhagischen Kolitis und dem HUS in Zusammenhang gebracht werden.^{7, 11, 16}

Eine virulente Eigenschaft haben alle EHEC-Stämme gemeinsam: die Fähigkeit zur Produktion eines oder mehrerer Zytotoxine, den sogenannten Shiga Toxinen (ST) oder Verotoxinen (VT).^{9, 14} ST-I und ST-II sind die häufigsten Toxine, und einzelne EHEC Stämme haben die Fähigkeit, eines oder beide in unterschiedlichen Mengen zu produzieren. Die Messung der ST-Produktion ist daher der individuellen (O157:H7) Serotyp-Identifikation als diagnostische Strategie zur Diagnose EHEC-assoziiierter Erkrankungen überlegen.^{7, 8, 16} Zytotoxine können durch den spezifischen Zytotoxintest nach Karmali identifiziert werden.⁸ Dieser Zytotoxin-Test ist jedoch arbeitsintensiv, bedarf der Ausrüstung zur Zellkultivierung, wurde bisher nicht standardisiert und kann bis zu 72 Stunden dauern, um das Vorkommen des Zytotoxins zu bestätigen.⁸

Premier EHEC nutzt die Eigenschaft der EHEC zur Produktion dieser Toxine aus und wurde für den direkten Nachweis ST-produzierender Stämme aus Stuhlproben oder Kulturen entwickelt.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der Premier EHEC-Test verwendet monoklonale Anti-Shiga-Toxin-Erfassungs-Antikörper, die an Mikrotiterkavitäten gebunden sind.⁴ Verdünnte Proben werden in die Kavitäten gegeben und bei Raumtemperatur inkubiert. Ungebundenes Material wird in einem Waschschritt entfernt. Polyklonale Anti-Shiga-Toxin-Antikörper werden zum Nachweis hinzugefügt und bei Raumtemperatur inkubiert. Ungebundene Antikörper werden durch einen weiteren Waschschritt entfernt. Enzymkonjugierte, polyklonale anti-IgG-Antikörper werden zugesetzt und bei Raumtemperatur inkubiert. Wenn Toxin in der Probe vorhanden ist, entsteht ein reaktiver Antikörper-Enzym-Komplex. Nach dem Waschschritt um ungebundenes Konjugat zu entfernen, wird Substrat zugefügt und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. In der Gegenwart von gebundenem Enzym entwickelt sich Farbe. Nach der Zugabe von Stopp-Lösung werden die Ergebnisse mit bloßem Auge oder photometrisch abgelesen.

REAGENZ/ENTHALTENE MATERIALIEN

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

- Premier EHEC Antikörper-beschichtete Mikrotiterkavitäten Plastikavitäten** – zum Auseinanderbrechen, beschichtet mit monoklonalen Antikörpern spezifisch gegen *E. Coli* Shiga Toxin I und II.
- Premier EHEC Positiv-Kontrolle** – inaktiviertes Shiga Toxin in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel.
- Premier EHEC Negativ-Kontrolle** – gepufferte Lösung mit Konservierungsmittel.
- Premier EHEC Probenverdünnungspuffer** – gepufferte Proteinlösung mit Konservierungsmittel.
- 20X Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer II)** – konzentrierter Waschpuffer mit Konservierungsmittel.
- Premier EHEC Nachweis-Antikörper** – Kaninchen-Antikörper spezifisch gegen Shiga Toxine in gepufferter Proteinlösung mit Konservierungsmittel.
- Premier EHEC Enzym-Konjugat** – Ziege anti-Kaninchen Antikörper konjugiert mit Meerrettich-Peroxidase in gepufferter Proteinlösung mit Konservierungsmittel.
- Substrat (Premier Substrate II)** – gepufferte Lösung mit Harnstoffperoxid.
- Stopplösung (Premier Stop Solution II)** – 2N Schwefelsäure. **Achtung:** Hautkontakt vermeiden, bei Kontakt mit Wasser spülen.
- Transfer-Pipetten** - Jede Pipette ist gekennzeichnet um die 50 µL, 100 µL, 200 µL und 300 µL Volumen anzuzeigen.
- Halter für Mikrotiter-Streifen**
- Klebefolie zum Verschließen der Mikrotiter-Streifen**

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

- Holzspatel
 - Reagenzröhrchen (12 x 75 mm) zur Probenverdünnung
 - Destilliertes oder deionisiertes Wasser
 - Spritzflasche
 - Meßzylinder zur Herstellung des Arbeits-Waschpuffers (1fach konzentriert)
 - ELISA-Plattenphotometer für Extinktionsmessungen bei 450 nm oder 450/630 nm*
 - STAT Fax™ 2200 Plattenrüttler oder gleichwertig (Optional nur für Nährboden-Methode)*
- * HINWEIS: Der Benutzer ist dafür verantwortlich, die Messgeräte und die Plattenrüttler vor ihrem Einsatz mit diesem Produkt zu bestätigen.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Patientenproben können infektiös sein und sollten nach den Biosafety Level 2-Empfehlungen des CDC/NIH Handbuchs "*Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories*" gehandhabt werden.
- Alle Reagenzien sollten vor dem Gebrauch vorsichtig durchmischt werden.
- Kavitäten, Nachweisantikörper, Enzymkonjugat oder Positivkontrolle aus Testkits unterschiedlicher Chargennummer nicht austauschen. Der Probenverdünnungspuffer, der 20X Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer II), der Substrat (Premier Substrate II) und die Stopplösung (Premier Stop Solution II) sind chargenübergreifend verwendbar solange das Verfallsdatum nicht abgelaufen ist.
- Die Reagenzien sollten vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden
- Halten Sie die Tropfflaschen der Reagenzien in geeignetem Abstand über der Kavität senkrecht, um eine sorgfältige Zugabe von Tropfen der richtigen Größe zu erzielen.
- Die Test-Kit-Bestandteile nicht nach dem Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.
- Die Flaschen mit den richtigen farbigen Deckeln verschließen.
- Waschpuffer und alle Testmaterialien in geeigneten Behältern entsorgen. Sie sollten als potentiell pathogen behandelt werden.
- Die Positivkontrolle enthält inaktiviertes Shiga Toxin. Es sollte dennoch als potentiell pathogenes Material gehandhabt werden.
- Hautkontakt mit der Stopp-Lösung II (2N Schwefelsäure) sollte vermieden werden. Bei Kontakt sofort mit Wasser spülen.
- Die Mikrotiterkavitäten nicht wiederverwenden.
- Unbenutzte Kavitäten in den wiederverschließbaren Beutel zurücklegen. Die Streifen müssen vor Feuchtigkeit geschützt werden.**
- Zur Vorbereitung und zur Übertragung der Proben müssen die mitgelieferten Transferpipetten benutzt werden. Verwenden Sie eine pro Probe.
- Ein Verspritzen der verdünnten Proben beim Einfüllen in die Kavität wird vermieden, wenn die Spitze der Transferpipette halb in die Kavität eingebracht und die Probe langsam an der Seite der Kavität nach unten laufen gelassen wird.
- Das Auswaschen der Kavitäten sollte exakt nach der Testanleitung durchgeführt werden. **Unzureichendes Waschen kann zu erhöhten Hintergrund-Extinktionen und falsch positiven Ergebnissen führen.**
- Alle Reagenzien außer dem Waschpuffer-Konzentrat werden in der fertigen Arbeitskonzentration geliefert.
- Jede Abweichung von den vorgegebenen Inkubationszeiten nach oben oder unten beeinflusst die Sensitivität und Spezifität und sollte vermieden werden.
- Mikrotiterkavitäten nicht verwenden wenn der Folienbeutel beschädigt ist. (dh Löcher oder Einstich).

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

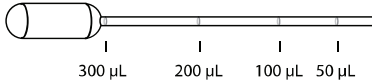
Für weitere Informationen zu den Gefahren- und Sicherheitshinweisen, beziehen Sie sich auf die SDS, die uner folgendem Link verfügbar sind www.meridianbioscience.com (US version) / www.meridianbioscience.eu (EU version).

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Haltbarkeitsdatum wird auf dem Etikett des Test-Kits angegeben. Das Test-Kit sollte bei 2-8 C gelagert werden und nach jedem Gebrauch sofort wieder in den Kühlschrank gelegt werden.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die Premier EHEC-Transferpipette ist im Folgenden abgebildet:



VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

- Der gesamte Test-Kit einschließlich dem Beutel mit den Mikrotiterplatten sollte vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.
- Stellen Sie soviel einfach konzentrierten Arbeits-Waschpuffer her wie nötig: z.B. 4,0 mL des Waschpuffer-Konzentrats II + 76,0 mL destilliertes oder deionisiertes Wasser reichen aus, um einen Streifen zu waschen. Geben Sie den Arbeitspuffer in eine saubere Spritzflasche, er kann bei Raumtemperatur bis zu drei Monate lang aufbewahrt werden.

PROBENNAHME UND-VORBEREITUNG

- CDC (Centers for Disease Control) Empfehlungen für die Lagerung der Stuhlproben, die Isolierung und die Identifizierung der EHEC Organismen:
 - Stuhlproben sollten sobald wie möglich getestet werden, wenn sie ins Labor kommen. Falls nicht gleich getestet, sollten die Proben bei 2-8 C oder bei $\leq 70C$ eingefroren werden.
 - Gekühlte Stuhlproben sollten innerhalb von ein bis zwei Stunden kultiviert werden. Wenn dies nicht möglich ist, sollten sie in ein Cary-Blair-Transport-Medium überführt werden. Rektale Abstrichpuffer sollten sofort in Cary-Blair-Transport-Medium gebracht werden.
 - Proben in Transport-Medien sollten bei 2-8 C gelagert werden, wenn sie innerhalb von 2-3 Tagen untersucht werden können. Wenn eine Kultivierung innerhalb dieser Zeit nicht möglich ist, sollten die Proben sofort nach Erhalt bei $\leq -70 C$ eingefroren werden. Proben in Transport-Medium sollten nicht zuerst Tage gekühlt und dann eingefroren werden oder einige Zeit bei Raumtemperatur gelassen werden.
- Lagerung von Stuhl und Flüssig-Nährböden bis zur Durchführung des Premier EHEC-Tests: Stuhlproben und Flüssig-Nährböden können bis zu sieben Tage bei 2-8 C bis zur Durchführung des ELISA aufbewahrt werden. Wenn der Test nicht innerhalb dieser Zeitspanne durchgeführt werden kann, sollten die Stuhlproben und/oder die Flüssigmedien bei ($\leq -70 C$) eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden.

A. Direkte Stuhlprobe

- 200 µL des Probenverdünnungspuffers in ein trockenes 12 x 75 mm Reagenzröhrchen geben (Achtung: die dritte Markierung auf der Transferpipette von der Spitze gesehen markiert 200 µL).
- Den Stuhl so sorgfältig wie möglich vor dem Pipettieren durchmischen:
 - Flüssige, halbflüssige Stühle oder Stühle in Transport-Medien: Mit der Transfer-Pipette 50 µL der Stuhlprobe (bis zur ersten Markierung der Pipettenspitze) aufziehen und in den vorbereiteten Probenverdünnungspuffer geben. Die Stuhlsuspension mit derselben Pipette vorsichtig mehrere Male aufziehen und wieder ausdrücken, das Röhrchen 15 Sekunden lang mit dem Rüttler durchmischen. Die Transferpipette zum späteren Gebrauch in dem Röhrchen lassen.
 - Nicht abnehmbare Stühle: Kleine Portion (3-4 mm Durchmesser) des sorgfältig vermischten Stuhls mit einem Holzspatel in den Probenverdünnungspuffer überführen. Emulgieren Sie den Stuhl mit dem Holzspatel, dann 15 Sekunden lang mit dem Rüttler durchmischen. Eine Transferpipette in das Röhrchen stecken.

B. Plattenmethode

- 20 µL der Stuhlprobe auf eine MacConKey oder Sorbitol/MacConKey Platte geben und mit einer Impfose ausstreichen.
- 16-24 Stunden bei 37 C inkubieren.
- Einzelne Kolonien oder Koloniesausstriche können mit einer Öse abgenommen und in 200 µL Probenverdünnungspuffer für die ELISA-Durchführung gegeben werden.

C. Flüssig-Nährboden-Methode

- Fügen Sie 10-50 µL Stuhl zu 5 mL MacConKey's Bouillon, GN Bouillon. 10-15 Sekunden mit dem Rüttler durchmischen.
- 16-24 Stunden bei 37 C inkubieren.
- 50 µL des bebrüteten Nährbodens zu 200 µL Probenverdünnungspuffer für die ELISA-Durchführung hinzufügen.

TESTDURCHFÜHRUNG

Achtung: bei einer großen Zahl von Proben können Mehrfach- oder Mehrkanalpipetten zum Pipettieren der Reagenzien eingesetzt werden.

- Nachdem sich der Beutel auf Raumtemperatur erwärmt hat, die benötigte Anzahl von Mikrotiter-Kavitäten abbrechen (1 Kavität für jede Probe plus 1 Positiv- und 1 Negativ-Kontrolle pro Testlauf). Kavitäten in den Halter für Mikrotiter-Streifen setzen und die Plätze aller Kavitäten notieren. Unbenutzte Mikrotiter-Kavitäten müssen sofort wieder in dem Beutel verschlossen werden.
- 100 µL verdünnte Probe (zweite markierung von der Spitze der Pipette) in die entsprechende Kavität füllen (die Pipettenspitze halb in die Kavität einbringen und die Probe langsam an der Seite der Kavität hinunterlaufen lassen).
- Je 2 frei fallende Tropfen der Positiv- und Negativ-Kontrolle in die jeweiligen Kavitäten hinzugeben. Die Kavitäten 30 Sekunden lang durch Schütteln der Platte mischen.
- Ein passendes Stück Klebefolie zuschneiden und fest auf die Kavitäten drücken, um sie zu verschließen. Inkubieren Sie die Platte eine Stunde lang bei Raumtemperatur (22-27 C). Nur für die Nährboden-Methode: Alternativ, dazu können Labors, die mit einem heizbaren Plattenrüttler (STAT Fax™-2200) ausgestattet sind, die Platte 30 Minuten lang bei 25 C und 1000 rpm (Einstellung 5) inkubieren und rotieren lassen.
- Klebefolie vorsichtig entfernen und die Kavitäten waschen:
 - Die Platteninhalte in einen Abfallbehälter für pathogene Materialien kippen.
 - Die umgedrehte Platte auf einem Stapel sauberer Papiertücher ausklopfen.
 - Alle Kavitäten mit dem Arbeits-Waschpuffer füllen. Die Benutzung einer Spritzflasche wird empfohlen.
 - Den Waschzyklus (Auskippen, auf frischen Tüchern Ausklopfen, Füllen) 4 weitere Male wiederholen. Nach dem letzten Füllen, sollten die Platten ausgekippt und fest genug auf frischen Tüchern ausgeklopft werden, um soviel überschüssigen Waschpuffer wie möglich zu entfernen, die Kavitäten jedoch nie ganz austrocknen lassen.
- Zwei frei fallende Tropfen des Nachweis-Antikörpers in jede Kavität geben. Die Platte 30 Sekunden lang schütteln.
- Zum Verschließen die Klebefolie fest auf die Mikrokavitäten drücken. Die Platte 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (22-27 C) inkubieren. Nur für die Nährboden-Methode: Alternativ, können Sie die Platte auf dem STAT Fax™-2200 Plattenrüttler 15 Minuten lang bei 25 C und 1000 rpm (Einstellung 5) inkubieren und rotieren lassen.
- Den Waschvorgang (Schritt 5) wiederholen.
- Zwei frei fallende Tropfen des Enzym-Konjugats in jede Kavität geben. Die Platte 30 Sekunden lang schütteln.
- Die Klebefolie zum Verschließen fest auf die Mikrotiter-Kavitäten drücken. Die Platte 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (22-27 C) inkubieren. Nur für die Nährboden-Methode: Alternativ, können Sie die Platte auf dem STAT Fax™-2200 Plattenrüttler 15 Minuten lang bei 25 C und 1000 rpm (Einstellung 5) inkubieren und rotieren lassen.
- Den Waschgang (Schritt 5) wiederholen.
- Die Unterseite aller Kavitäten mit einem fusselfreien Tuch reinigen.
- Zwei frei fallende Tropfen der Substrat-Lösung II in jede Kavität geben. Die Platte 30 Sekunden lang schütteln. 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
- Zwei frei fallende Tropfen der Stopp-Lösung II in jede Kavität geben. Die Platte 30 Sekunden lang schütteln. **Achtung:** die anfängliche Farbe bei einer positiven Reaktion ist blau, sie geht in gelb über, wenn die Stopp-Lösung II zugesetzt wird.
- Reaktion ablesen:
 - Mit dem bloßen Auge: innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung II.
 - Spektrphotometrische Bestimmung: das Photometer gegen Luft abgleichen. Die Unterseite der Kavitäten mit einem fusselfreien Tuch abwischen. Die Extinktion bei 450 nm oder 450/630 nm innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung II ablesen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

1. Ablesen mit bloßem Auge

Negativ = farblos
Positiv = deutliche gelbe Farbe

Eine schwache Gelbfärbung muß spektrphotometrisch ausgewertet werden

AUHTUNG: Im Hinblick darauf, daß Bakterien-Isolate eine epidemiologische Bedeutung haben, wird empfohlen, alle Toxin-positiven Proben für die Isolierung von Shiga Toxin positiven Organismen zur Verfügung zu stellen. Wir schlagen daher vor, dass die einzelnen mikrobiologischen Labore die Bakterienisolierung mit dem entsprechenden Referenzlabor koordinieren.

2. Spektrphotometrische Messung bei einfacher Wellenlänge (450 nm)

Negativ = $OD_{450} < 0,180$

Positiv = $OD_{450} \geq 0,180$

3. Spektrphotometrische Messung bei dualer Wellenlänge (450/630 nm)

Negativ = $OD_{450/630} < 0,150$

Positiv = $OD_{450/630} \geq 0,150$

Achtung: Ein positives Ergebnis bedeutet, daß Shiga Toxine anwesend sind. Ein negatives Ergebnis bedeutet, daß Shiga Toxine nicht vorhanden sind, oder daß die Toxin-Spiegel unter der Nachweisgrenze des Tests liegen.

Achtung: Bezüglich schwach positive Ergebnisse lesen Sie bitte den Abschnitt "Qualitätskontrolle (Punkt 5)". Bei sehr stark positiven Reaktionen kann es zur Bildung eines purpurnen Niederschlags innerhalb weniger Minuten nach Zugabe der Stopp-Lösung II kommen.

QUALITÄTSKONTROLLE

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

- In jedem Testlauf müssen Positiv- und Negativ-Kontrolle mitlaufen, um die Qualität der Reagenzien zu überprüfen.
- Der Extinktionswert der Positiv-Kontrolle sollte bei 450 nm oder 450/630 nm $> 0,500$ sein. Die Positiv-Kontrolle sollte bei Ablesen mit dem bloßen Auge deutlich gelb sein.
- Der Extinktionswert der Negativ-Kontrolle sollte bei 450 nm $< 0,180$ und bei 450/630 nm $< 0,150$ aber größer als 0,00 sein. Wenn die Negativ-Kontrolle einen Wert $< 0,00$ hat, sollte das Photometer erneut gegen Luft abgegleichen werden und die Platte erneut gemessen werden. Die Negativ-Kontrolle sollte bei Ablesen mit dem bloßen Auge farblos sein.
- Jede positive Kavität ohne sichtbare Farbe sollte an der Unterseite der Kavität abgewischt werden, erneut in Position gebracht werden und abgelesen werden.
- Wenn die Häufigkeit schwach positiver Ergebnisse (OD zwischen 0,150 und 0,200 bei dualer Wellenlänge oder OD zwischen 0,180 und 0,230 bei einfacher Wellenlänge) höher als 5% der untersuchten Proben liegt, deutet dies auf unzureichendes Waschen hin. Kräftigeres Waschen oder eine Erhöhung der Anzahl der Waschgänge bei Schritt 5 des Testvorgangs auf sieben wird empfohlen.
- Wenn die erwarteten Reaktionen nicht beobachtet werden und das Haltbarkeitsdatum der Reagenzien noch nicht abgelaufen ist, zur Ermittlung der Ursache des Versagens als Erstes die Kontrolltests wiederholen. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, bitte rufen Sie den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Auslieferer.
- Vor jedem Gebrauch sollten die Testbestandteile auf offensichtliche Zeichen mikrobiellen Befalls, auf Vereisung und auf Undichtigkeiten überprüft werden.
- Die Ergebnisse einer jeden Qualitätskontrolle sollten in einem geeigneten Labor-Journal aufgezeichnet werden, um eine hohe Dokumentations-Qualität zu erreichen.

ERWARTETE WERTE

Der Premier EHEC Test weist das Vorkommen von Shiga Toxinen nach. Erwartungswerte für eine gegebene Bevölkerung sollten für jedes Labor bestimmt werden. Die Positivrate hängt von dem Alter des Patienten, der geographischen Lage, der Methode der Probenahme, -handhabung und des -transports, von dem angewandten Test und den allgemeinen Gesundheitsbedingungen der untersuchten Patientenbevölkerung ab.^{4, 5, 9, 16}

In den Washington und Minnesota Staaten, während den Jahren 1984-1987 wurde der *E. coli* O157:H7 Serotyp als häufigster Enteritiserreger in Stuhlproben nach *Campylobacter* und *Salmonella* isoliert. Ähnliche Ergebnisse wurden während der selben Zeit in Alberta, in British Columbia und in Ontario, Kanada erhalten.^{2, 12, 13, 15, 17-19}

Direkt fäkal Zytotoxin Tests zeigten, dass 10 % zusätzliche Proben nicht diagnostizierte EHEC Organismen enthalten können. Dieser Prozentsatz stammt von unseren klinischen Studien und soll mit Bedacht beobachtet werden.^{3, 7, 10, 11, 16}

Es wurde gezeigt, dass dieser Serotyp *E. coli* O157:H7 am häufigsten während der Sommermonate (Juni, Juli, August) isoliert wird. Die Rate der Shiga Toxin produzierende, nicht O157 Stämme, bleibt noch zu bestimmen.^{2, 12}

EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Premier EHEC-Test weist Shiga Toxine aus Stuhl, Flüssig-Nährböden oder angezüchteten Isolat nach. Die Toxinmenge konnte bisher nicht mit dem Auftreten oder dem Schweregrad der Krankheit in Zusammenhang gebracht werden. Wie bei allen *in vitro* Testmethoden sollten die Testergebnisse zusammen mit anderen klinischen Informationen betrachtet werden.
- Shiga Toxin I und das Toxin, das von *Shigella dysenteriae* Typ 1 Stämmen (Shiga-Toxin) produziert wird, sind nahezu identisch. Daher zeigt der Premier EHEC Test bei Anwesenheit des Shiga-Toxins in nachweisbaren Mengen eine positive Reaktion an.
- Ein positives Ergebnis schließt nicht das Vorkommen anderer infektiöser Organismen aus.
- Die Toxin-Produktion kann nach mehreren Stuhlientleerungen hintereinander verloren gehen. Bei Koloniesausstrichen ist die Wahrscheinlichkeit, ST-produzierende Organismen zu entdecken, erhöht.

LEISTUNGSMERKMALE

Der Premier EHEC-Test wurde in drei Kliniken und einem staatlichen Gesundheitslabor in den USA bewertet. Jedes Studienzentrum analysierte Diarrhoe-Stuhlproben, die für die Routine-Kultivierung von enteralen Erregern eingeschickt worden waren. Jeder Stuhl wurde sowohl direkt als auch nach der Flüssig-Nährboden-Methode mit dem Premier EHEC-Test analysiert. Ein spezifischer ST-Zytotoxin-Neutralisationstest wurde bei Meridian Bioscience mit diesen Proben durchgeführt. Die Ergebnisse aus der direkten Analyse und dem Flüssig-Nährboden-Test sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.³

	Premier EHEC			
	Direkte Stuhlprobe		Flüssig-Nährboden-Methode	
Zytotoxin	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Positiv	15	4	22	0
Negativ	17	391	5	236
Grenzwertig	2	17	0	3

Relative Sensitivität = $\frac{15}{15+17} = 78,9\%$ (56,6-91,5%)*
Relative Spezifität = $\frac{391}{391+5} = 95,8\%$ (93,4-97,4%)*
Relative Übereinstimmung = $\frac{15}{15+391} = 95,1\%$ (92,6-96,8%)*
 $\frac{22}{22+5} = 100\%$ (85,1-100%)*
 $\frac{0}{0+236} = 97,9\%$ (95,2-99,1%)*
 $\frac{0}{0+3} = 98,1\%$ (95,6-99,2%)*

Aus zwei der 17 direkten Stuhlproben wurden ST-produzierende EHEC isoliert, die mit dem Premier EHEC positiv und Zytotoxin-negativ waren: in einer Probe der Stamm O157:H7 und in einer ein Stamm O6:H nicht typisierbar. Die PCR** bestätigte das Vorkommen von ST-Genen in zwei Premier EHEC positiven/Zytotoxin-negativen Proben und in einer Probe, die mit dem Premier EHEC positiv und im Zytotoxin-Test grenzwertig war. Die 15 Premier EHEC positiven/Zytotoxin-positiven direkten Stuhlproben umfassten: neun mal den EHEC-Stamm O157:H7, zweimal einen EHEC-Stamm O6:H nicht typisierbar, einmal einen EHEC-Stamm O nicht typisierbar :H12, 41w oder 51 und zweimal den EHEC-Stamm O111:NM. Aus den übrigen Stuhlproben konnten keine Isolate gewonnen werden.

ST-produzierende EHEC wurden aus zwei von fünf Premier EHEC-positiven/Zytotoxin-negativen Nährböden isoliert: ein Stamm O157:H7 und ein Stamm O111:NM. Die 22 Premier EHEC-positiven/Zytotoxin-positiven Proben umfassten folgende ST-produzierenden EHEC-Stämme: 13 O157:H7, dreimal O6:H nicht typisierbar, einmal O nicht typisierbar :H12, 41w oder 51 und einmal O111:NM. Aus den übrigen vier Proben von Nährböden konnten keine EHEC-Stämme isoliert werden.

*95% Vertrauensintervall berechnet nach der üblichen Methode wie in Klammern angegeben
**PCR ist eine Forschungsmethode und nicht für die In-vitro-Diagnostik geeignet.

Verschiedene *E. Coli* ST-produzierende Organismen wurden mit dem EIA sowohl nach der Platten- als auch der Flüssig-Nährboden-Methode untersucht (siehe "Vorbereitung der Proben" Abschnitt B und C). Jeder Stamm ist ein Isolat aus klinischem Material und jeder wurde mit einem Zytotoxin-Test und mit einem Polymerase-Kettenreaktion (PCR)-Test analysiert um das Vorkommen von ST-Genen zu bestätigen. Alle Organismen zeigten bei einer solchen Analyse positive Ergebnisse. Die Zahl in Klammern gibt die Zahl der verschiedenen Stämme an, die durch den Test der jeweiligen Gruppe zugeordnet wurden. Die Toxinart, die von jedem Stamm produziert wird, wird ebenfalls angegeben.⁵

Stamm	ST-Art	Stamm	ST-Art
O157:H7 (3)	I	O91:H21 (1)	I
O157:H7 (7)	II	O146:H21 (1)	I
O157:H7 (9)	I & II	O137:H41 (1)	I & II
O111:NM (3)	I & II	O111:H8 (1)	I & II
OX3:H21 (1)	II	O50:H7 (1)	I
O4:NM (1)	I & II	O145:NM (2)	II
O165:H25 (1)	II	O103:H2 (1)	I
O165:H25 (1)	I & II	O125:NM (2)	I
O45:H2 (1)	I	O26:H11 (1)	I
O126:H27 (1)	I	O5:NM (3)	I
O121:H19 (1)	I & II	O171:NM (1)	II
O121:H19 (1)	II	O83:H1 (1)	I & II

REPRODUZIERBARKEIT

Variabilität innerhalb eines Testlaufs (Intra-assay Variability) – Jeweils 10 Aliquots von zwei bekanntermaßen positiven Nährboden-Proben und von zwei bekanntermaßen positiven Stuhlproben wurden in einem Testlauf untersucht.

Probe	Mittlere Extinktion 450/630 _{nm}	SD	VI %
Nährboden Nr. 1	0,362	0,013	3,5
Nährboden Nr. 2	1,920	0,094	4,9
Stuhl Nr. 1	0,317	0,010	3,1
Stuhl Nr. 2	0,774	0,032	4,2

Variabilität zwischen den Testläufen (Inter-assay Variability) – Jeweils 10 Aliquots von zwei bekanntermaßen positiven und einer bekanntermaßen negativen Nährboden-Proben wurden an drei verschiedenen Tagen analysiert. Dieses Protokoll wurde mit einem negativen und zwei positiven Stuhlproben wiederholt.

Probe	Mittlere Extinktion 450/630 _{nm}	SD	VI %
Nährboden Nr. 1	0,369	0,032	8,7
Nährboden Nr. 2	1,546	0,293	18,9
Nährboden Nr. 3	0,074	0,007	9,2
Stuhl Nr. 1	0,335	0,027	8,1
Stuhl Nr. 2	0,818	0,079	9,6
Stuhl Nr. 3	0,058	0,007	11,4

KREUZREAKTIVITÄT

Der Premier EHEC-EIA wurde mit Isolat aus klinischem Material (CI) oder mit ATCC-Stämmen wie unten aufgelistet auf seine Spezifität überprüft. Jeder Stamm wurde direkt im EIA mit der Plattenmethode oder Verwendung des Kolonie-Isolierungsverfahrens getestet (siehe Vorbereitung der Proben Abschnitt B). Alle Stämme waren bei dieser Analyse negativ. In einer weiteren Studie wurden die Bakterienstämme entweder in einen einfach-positiven EHEC-Stuhl oder einen einfach-negativen EHEC-Stuhl in einer Konzentration von ungefähr 2,4 x 10⁸ cfu/mL überimpft. Die folgenden Isolate aus klinischem Material (CI) oder ATCC-Stämme waren im direkten Test alle negativ. Zudem zeigten die folgenden Stämme bei Überimpfung in einen EHEC-positiven oder negativen Stuhl⁵ keine von den erwarteten Ergebnissen abweichenden Resultate.

Beschreibung	CI	Beschreibung	ATCC
<i>Campylobacter coli</i>	CI	<i>Prevotella bivia</i>	ATCC 29303
<i>Campylobacter fetus</i>	CI	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 6380
<i>Campylobacter jejuni</i>	CI	<i>Providencia alcalifaciens</i>	ATCC 9886
<i>Campylobacter lari</i>	CI	<i>Providencia stuartii</i>	ATCC 33672
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 29672
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 6570
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 3624	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 6571
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 14810	<i>Salmonella Group B</i>	CI
<i>Enterococcus faecalis</i>	CI	<i>Salmonella hilversum (Grp N)</i>	ATCC 15784
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13048	<i>Salmonella muenosota</i>	ATCC 9700
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	<i>Serratia liquefaciens</i>	CI
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 9637	<i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC 11456
<i>Escherichia fermentans</i>	ATCC 35469	<i>Shigella flexneri</i>	CI
<i>Escherichia hermannii</i>	ATCC 33650	<i>Shigella sonnei</i>	CI
<i>Gardnerella vaginalis</i>	CI	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Helicobacter pylori</i>	CI	<i>Staphylococcus aureus (Cowan I)</i>	ATCC 12598
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC 4356	<i>Streptococcus agalactiae</i>	CI
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	CI	<i>Streptococcus faecalis</i>	CI
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CI	<i>Yersinia enterocolitica</i>	CI
<i>Nocardia asteroides</i>	ATCC 3308	<i>Yersinia enterocolitica O:9</i>	ATCC 55075

TESTEMPFLINDLICHKEIT

Die Nachweisgrenze für ST-I und ST-II liegt bei 7 bzw. 15 pg/Kavität.

REFERENCES

- Brian, M.J., Frosolono, M., Murray, B.E., Miranda, A., et al. Polymerase chain reaction for diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection and hemolytic-uremic syndrome. *J. Clin. Micro.* 1992;30:1801-1806.
- Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Infectious Diseases, *E. Coli* O157:H7, What the clinical microbiologist should know. 1994.
- Data on file, Meridian Bioscience, Inc.
- Donohue-Rolfe, A., Acheson, DWK., Kane, AV. and GT. Keusch. Purification of shiga-toxin and shiga-like toxins I and II by receptor analog affinity chromatography with immobilized P1 glycoprotein and production of cross-reactive monoclonal antibodies. *Infect. Immun.* 1989;57:3888-3893.
- Griffin, P.M., Ostroff, S.M., Tauxe, R.V., Green, K.D., Wells, J.G., Lewis, J.H. and PA. Blake. Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. A broad clinical spectrum. *Ann. Intern. Med.* 1988;109:705-712.
- Hull, A.E., Acheson, DWK., Echeverria, P., Donohue-Rolfe, A., and GT. Keusch. Mitomycin immunoblot colony assay for detection of shiga-like toxin producing *Escherichia coli* in fecal samples: comparison with DNA probes. *J. Clin. Micro.* 1993;31:1167-1172.
- Karch, H., Böhm, J., Schmidt, J., Gunzer, F., Aleksic, S., and J. Heesemann. Clonal structure and pathogenicity of Shiga-like toxin producing, sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Micro.* 1993;31:1200-1205.
- Karmali, M.B. Laboratory diagnosis of verotoxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin. Micro. Newsletter.* 1987;9:65-70.
- Kay, B.A., Griffin, P.M., Stockbine, VA. and J.G. Wells. Too fast food: Bloody diarrhea and death from *Escherichia coli* O157:H7. *Clin. Micro. Newsletter.* 1994;16:17-19.
- Mariani-Kurkjian, P., Deamur, E., Mialn, A., Picard, B., et al. Identification of a clone of *Escherichia coli* O103:H2 as a potential agent of hemolytic-uremic syndrome in France. *J. Clin. Micro.* 1993;31:296-301.
- Maniar, AC., Williams, T., Anand, CM. and GW. Hammond. Detection of verotoxin in stool specimens. *J. Clin. Micro.* 1990;28:134-135.
- Martin, DL., MacDonald, K.L., White, K.E., Sober, J.T. and MT. Osterholm. The epidemiology and clinical aspects of the hemolytic uremic syndrome in Minnesota. *New Engl. J. Med.* 1990;323:1161-1167.
- Neill, M.A. *Escherichia coli* O157:H7. A pathogen of no small renown. *Infect. Dis. Newsletter.* 1991;10:19-24.
- O'Brien, AD. and RK. Holmes. Shiga and shiga-like toxins. *Micro Reviews.* 1987;51:206-219.
- Ostroff, S.M., Kobayashi, J.M. and J.H. Lewis. Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State. *JAMA.* 1989;262:355-359.
- Pai, C.J., Ahmed, N., Lior, J., Johnson, W.M., Sims, H.V., and DE. Woods. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: A two year prospective study. *J. Infect. Dis.* 1988;157:1054-1057.

- Ritchie, M., Partington, S., Jessop, J., and MT. Kelly. Comparison of a direct fecal shiga-like toxin assay and sorbitol-MacConkey Agar culture for laboratory diagnosis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection. *J. Clin. Micro.* 1992;30:461-464.
- Rowe, P.G., Ortbine, E., Lior, J., Wells, G.A., McLaine, P.N., et al. A prospective study on exposure to verotoxin-producing *Escherichia coli* among Canadian children with haemolytic uremic syndrome. *Epidemiol. Infect.* 1993;110:1-7.
- Wick, P.D., Hamacher, M.E., Archer, J.R. and J.S. Wintheiser. Relative incidence of *Escherichia coli* O157:H7 from stool specimens for routine culture in Wisconsin. Abstract. American Society for Microbiology, 1991 Annual Meeting.



SN11151

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

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.bn@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.bn@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 symboles, 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 medico 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
	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-diagnostico 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/EC.	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 Probenzubereitung in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		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 / Tampon de Réaction / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contents 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 / Coniugado enzimático / Coniugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Numero de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo de prueba / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactif / 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 / Tampon de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tamponne / Solution tamponnée / Tampon / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Coniugado / Coniugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluente 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 / Reactif de Détection / 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.