

## REACTIVIDAD CRUZADA

La especificidad de la prueba Premier Toxins A y B fue evaluada utilizando las siguientes cepas bacterianas o virales. Muestras positivas y negativas de materia fecal fueron adicionadas con una cantidad  $\geq 1 \times 10^9$  bacterias/mL y luego analizadas con la prueba Premier Toxins A y B. Los únicos dos microorganismos diferentes al *C. difficile* que reaccionaron en la prueba Premier Toxins A y B fueron dos cepas de *C. sordellii*, ATCC 9714 y VPI 9048. Ambas cepas producen homólogos HT y LT de las toxinas A y B respectivamente. Se encontró que todos los demás organismos dieron resultado negativo al ser añadidos a las materias fecales negativas. Además, éstos no interfirieron con las muestras positivas.<sup>13</sup>

### Microorganismos o virus (# de cepas analizadas)

Adenovirus 40 & 41 (2)	<i>Aeromonas hydrophila</i> (1)	<i>Bacillus cereus</i> (1)
<i>Bacillus subtilis</i> (1)	<i>Bacteroides fragilis</i> (1)	<i>Campylobacter coli</i> (1)
<i>Campylobacter jejuni</i> (1)	<i>Candida albicans</i> (1)	<i>Clostridium butyricum</i> (1)
<i>Clostridium difficile</i> non-tox.(7)	<i>Clostridium haemolyticum</i> (1)	<i>Clostridium histolyticum</i> (1)
<i>Clostridium novyi</i> (1)	<i>Clostridium perfringens</i> (1)	<i>Clostridium septicum</i> (1)
<i>Clostridium sporogenes</i> (1)	<i>Clostridium tetani</i> (1)	<i>Enterobacter aerogenes</i> (1)
<i>Enterobacter cloacae</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (3)	<i>Helicobacter pylori</i> (1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (1)	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> (1)
<i>Proteus vulgaris</i> (1)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1)	Rotavirus (1)
<i>Salmonella typhimurium</i> (1)	<i>Serratia liquefaciens</i> (1)	<i>Shigella dysenteriae</i> (1)
<i>Shigella flexneri</i> (1)	<i>Shigella sonnei</i> (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I) (1)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1)	<i>Streptococcus faecalis</i> (1)
<i>Vibrio cholerae</i> (1)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (1)	<i>Yersinia enterocolitica</i> (1)

## REACTIVIDAD DE LA PRUEBA

La prueba Premier Toxins A y B también fue evaluada utilizando varias cepas de referencia de *C. difficile*. Las cepas fueron cultivadas en caldo BHI durante 48 horas y su reactividad fue analizada en la prueba Premier Toxins A y B. Los resultados que están resumidos en la tabla que se muestra a continuación, indicaron que la prueba identificó correctamente todas las cepas toxigénicas de *C. difficile*, aun aquellas que sólo producen toxina B. No se observó reactividad cruzada con las cepas no toxigénicas de *C. difficile*.

Tipo de <i>C. difficile</i>	# de Premier Toxins A y B Pos/Total (% Correcto)
A+ / B+	25/25 (100%)
A- / B+	3/3 (100%)
A- / B-	0/14 (100%)

## PRUEBAS PARA SUSTANCIAS INTERFERENTES

Los resultados de la prueba Premier Toxins A y B no son afectados por la presencia de sangre, sulfato de bario, metronidazol o vancomicina en las muestras fecales.<sup>13</sup>

Se encontró que las siguientes sustancias no tienen ningún efecto en los resultados cuando están presente en las heces a las siguientes concentraciones: Sulfato de Bario (las heces diluido 1:2 con 10% Sulfato de Bario), Metronidazole (2,8 µg/pocillo), Vancomicina (2,8 µg/pocillo), y Sangre completa (50%).

## DEUTSCH

# PREMIER® TOXINS A & B

## Enzymimmunoassay zum Nachweis von *Clostridium difficile* Toxin A und Toxin B in Stuhlproben

REF 616096

IVD In-vitro-Diagnostikum

### VERWENDUNGSZWECK

Der Premier Toxins A&B ist ein qualitativer Enzymimmunoassay (EIA) zum Nachweis von *Clostridium difficile* Toxin A und Toxin B im Stuhl von Patienten mit einer Antibiotikum-assoziierten Diarrhoe. Der Premier Toxins A&B Test soll die Diagnose von *C.difficile*-assoziierten Erkrankungen unterstützen.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Der Toxinbildner *Clostridium difficile* ist einer der wichtigsten Erreger der Antibiotikum-assoziierten Diarrhoe und Kolitis<sup>1</sup> und der Auslöser von praktisch allen Fällen pseudomembranöser Kolitis.<sup>2-5</sup> Obwohl nur 2% aller gesunden Erwachsenen mit *C. difficile*<sup>6</sup> besiedelt sind, erwerben viele Patienten diesen Organismus durch nosokomiale Infektionen.<sup>5</sup> Den meisten Antibiotika wird eine Förderung der Proliferation des Toxin-Bildners *C.difficile* durch die Zerstörung der natürlichen Darmflora zugeschrieben.<sup>6</sup> Zwei Toxine, Toxin A und Toxin B, werden mit der Erkrankung, die durch *C.difficile* ausgelöst wird, in Verbindung gebracht.<sup>7</sup> Diese Toxine unterscheiden sich immunochemisch und biologisch. Das Antiserum gegen reines Toxin A bzw. Toxin B zeigt keine Kreuzreaktion mit dem jeweils anderen Toxin.<sup>8</sup> Toxin A wird als Enterotoxin beschrieben, das eine Erhöhung der intestinalen Permeabilität mit nachfolgender Ansammlung von Darmflüssigkeit und Diarrhoe auslöst.<sup>9</sup> Toxin B ist ein starkes Zytotoxin, das in Zellkulturen eine Abtötung der Zellen verursacht.<sup>7, 10</sup> Bei Hamstern ist das Toxin B tödlich, wenn es entweder allein intravenös oder in Kombination mit sublethalen Dosen von Toxin A intraoral verabreicht wird.<sup>11</sup> Die Rolle von Toxin B bei der Entwicklung der Darmerkrankung ist unklar. Es wurde jedoch die Hypothese aufgestellt, dass die beiden Proteine in vivo synergistisch wirken.<sup>11, 12</sup>

Der häufigste Test in der Diagnose der *C. difficile*-Kolitis ist die Bestimmung von Toxin B aus Patientenstuhlproben durch Zellkultur, wobei das Toxin durch ein spezifisches Antiserum neutralisiert wird. Dieser Test ist zwar extrem empfindlich und das Vorkommen von Toxin B korreliert positiv mit 90-100% der Fälle schwerer Erkrankungen,<sup>1, 7</sup> es müssen jedoch die Voraussetzungen zur Zellkultivierung vorhanden sein, und die Inkubation dauert bis zu 72 Stunden. Hinzu kommt, dass der Zytotoxin-Test nicht standardisiert ist, Testdurchführung und eingesetzte Zelllinien variieren beträchtlich.<sup>9</sup>

### BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der Premier Toxins A&B ist ein Enzymimmunoassay zum direkten Nachweis von *Clostridium difficile* Toxin A und Toxin B in Stuhlproben. Mikrotiterkavitäten, die einzeln von den Platten abzubrechen sind, sind mit Toxinspezifischen monoklonalen und polyklonalen Antikörpern beschichtet. Verdünnte Patientenproben und polyklonale Antikörper gegen Toxin A und B, die mit Meerrettich-Peroxidase (horseradish peroxidase, HRP) konjugiert sind, werden in die Kavitäten gegeben. Wenn eines der Toxine in der verdünnten Patientenprobe vorhanden ist, bilden sich Komplexe aus HRP-konjugierten polyklonalen Antikörpern (spezifisch für beide Toxine) und Toxinen. Nach dem Waschen bleiben diese Komplexe in den Kavitäten. Nach einem abschließenden Waschschrift wird Substrat/Chromogen (Peroxid und Tetramethylbenzidin) in die Kavitäten gegeben. Evtl. gebundenes Konjugat verwandelt das Substrat/Chromogen in ein blaues Produkt. Durch Zugabe von Säure (Stopplösung (Premier Stop Solution I)) wechselt die Farbe von blau nach gelb.

### REAGENZIENTHALTENE MATERIALIEN

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

1. Premier Toxins A&B Antikörper-beschichtete Kavitäten - Plastik-Kavitäten, einzeln abbrechbar, beschichtet mit monoklonalen Maus anti-Toxin A-Antikörpern und polyklonalen Ziege anti-Toxin B-Antikörpern.
2. Premier Toxins A&B Positivkontrolle - inaktivierte Toxine A und B in einer gepufferten Proteinlösung konserviert mit Gentamycin und Thimerosal (0,02%)
3. Premier Toxins A&B Probenverdünnungspuffer/Negativkontrolle - gepufferte Proteinlösung konserviert mit Gentamycin und Thimerosal (0,02%)
4. 20 fache Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer II) - konzentrierter Waschpuffer konserviert mit 0,2% Thimerosal

5. Premier Toxins A&B Enzymkonjugat - polyklonale anti-Toxin A und anti-Toxin B-Antikörper der Ziege konjugiert mit Meerrettich-Peroxidase in einer gepufferten Proteinlösung konserviert mit Gentamycin und 0,02% Thimerosal
6. Substrat (Premier Substrate I) -Gepufferte Lösung mit Peroxid und Tetramethylbenzidin
7. Stopplösung (Premier Stop Solution I) - 1M Phosphorsäure. VORSICHT: Hautkontakt vermeiden. Wenn doch Kontakt auftritt, mit Wasser spülen.
8. Transferrpipetten für Proben
9. Klebefolien zur Versiegelung der Streifen

### ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES ABER NICHT ENTHALTENE MATERIAL

1. Reagenzröhrchen zur Probenverdünnung
  2. Destilliertes oder deionisiertes Wasser
  3. OPTIONAL: EIA-Plattenphotometer für Extinktionsmessungen bei 450 nm oder 450/630 nm\*
  4. Spritzflasche
  5. Pipetten und Messzylinder zur Herstellung des 1fach konzentrierten Waschpuffers
  6. Holzspatel
  7. Papiertücher
  8. Brutschrank 37 ± 2 C
  9. Stopp-Uhr
  10. Vortex-Rüttler
  11. Abfallbehälter mit Desinfektionsmittel (dh. 10% ige Lösung eines Haushaltsbleichmittels) und/oder autoklavierbare Beutel für potentiell pathogenen Abfall
  12. Einmalhandschuhe
  13. OPTIONAL: Zentrifuge
  14. OPTIONAL: Stat Fax™ - 2200\* Inkubator/Rüttler für die 20 minütige Inkubation\*
  15. OPTIONAL: Halbautomatisches Mikrotiterplattenwaschgerät\*
- \* HINWEIS: Der Benutzer ist dafür verantwortlich, das halbautomatische Plattenwaschgerät, die Brutkästen und die Messgeräte vor ihrem Einsatz mit diesem Produkt zu bestätigen.

\*Stat Fax™ ist ein Warenzeichen der Awareness Technology, Inc.

### VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Die Reagenzien des Testkits sollten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (21-27 C) gebracht werden und vorsichtig gemischt werden.
3. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit Haut oder Schleimhäuten vermeiden.
4. In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
5. Einmalhandschuhe während des Umgangs mit Proben tragen und danach die Hände sorgfältig waschen.
6. Kavitäten, Enzymkonjugat, Substrat und Positivkontrolle aus Testkits unterschiedlicher Chargennummer nicht austauschen. (Der Probenverdünnungspuffer, das Waschpufferkonzentrat (Premier 20 X Wash Buffer II) und die Stopplösung (Premier Stop Solution I) mit derselben Reagenznummer sind chargenübergreifend verwendbar solange das Verfallsdatum nicht abgelaufen ist.)
7. Den Testkit nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums, das auf dem Etikett angegeben ist, verwenden.
8. Die Stopplösung I enthält 1M Phosphorsäure. Falls ein Kontakt mit Haut oder Schleimhaut auftritt, sofort mit Wasser spülen.
9. Patientenproben können infektiös sein und sollten nach den Biosafety Level 2 - Richtlinien - wie im CDC/NIH Handbuch "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories," beschrieben - gehandhabt werden.
10. Bei der Handhabung, dem Verdünnen oder dem Transfer von Proben jedes Verspritzen oder Zerstäubens vermeiden.
11. Mikrobielle Verunreinigung der Reagenzien vermeiden, dies kann zu falschen Ergebnissen führen.
12. Die mitgelieferten Transferrpipetten müssen für die Probenvorbereitung und den Transfer benutzt werden. Eine pro Probe verwenden. Gegenseitige Verunreinigung der Proben oder Reagenzien kann zu falschen Ergebnissen führen.
13. Alle Stuhlproben müssen - unabhängig von der Konsistenz - sorgfältig gemischt werden, um eine repräsentative Probe pipettieren zu können.
14. Die Reagenzienkonzentrationen, die Inkubationszeiten und Temperaturen wurden im Hinblick auf Sensitivität und Spezifität optimiert. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn diese Vorgaben eingehalten werden.
15. Die Positivkontrolle enthält die inaktivierten Toxine A und B. Sie sollte dennoch als möglicherweise infektiös gehandhabt werden
16. Alle Flaschen senkrecht halten, um eine sorgfältige Zugabe von Tropfen der richtigen Größe zu erzielen.
17. Mit den Flaschenspitzen die Mikrotiterkavitäten nicht berühren.
18. Die Flaschen mit den Deckeln der richtigen Farbe wieder verschließen.
19. Alle Reagenzien werden in der gebrauchsfertigen Konzentration (mit Ausnahme des 20fach konzentrierten Waschpuffers II) geliefert. Nicht verdünnen.
20. Jede Unter- und Überschreitung der vorgegebenen Inkubationszeiten kann die Sensitivität und Spezifität mindern und sollte vermieden werden.
21. 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 unter folgendem Link verfügbar sind: [www.meridianbioscience.com](http://www.meridianbioscience.com) (US version) / [www.meridianbioscience.eu](http://www.meridianbioscience.eu) (EU version).

### HALTBARKEIT UND LAGERUNG

1. Alle Testkit-Reagenzien bei 2-8 C lagern. Den Kit sofort nach Gebrauch wieder in den Kühlschrank legen.
2. Die Mikrotiterkavitäten im Beutel lassen, bis dieser Raumtemperatur erreicht hat, um so Kondensationen zu vermeiden. Alle unbenutzten Mikrotiterkavitäten und das Trockenmittel in den Beutel mit Reißverschluss zurücklegen und fest verschließen.
3. Der verdünnte Arbeits-Waschpuffer (Premier 20X Wash Buffer II) kann bei Raumtemperatur aufbewahrt und bis zu drei Monate lang verwendet werden.

### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

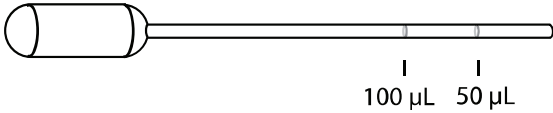
1. Den gesamten Kit, einschließlich des Beutels mit Mikrotiterkavitäten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (21-27 C) bringen. Sofort nach Gebrauch wieder auf 2-8 C kühlen.
2. Ein Desinfektionsgefäß für die Entsorgung von Reagenzien und anderen Verbrauchsmaterialien bereitstellen.
3. Mikrotiterkavitäten zwischen den einzelnen Schritten nicht austrocknen lassen.
4. Die Reproduzierbarkeit eines jeden EIA ist stark von der Gleichförmigkeit und Sorgfalt abhängig, mit der die Mikrotiterkavitäten gewaschen werden. Die in der EIA-Anleitung empfohlenen Waschschriffe geben beachten. Ein automatisches Platten-Waschgerät kann benutzt werden.
5. Ausreichend einfach konzentrierten Arbeits-Waschpuffer herstellen. Zum Beispiel: 5,0 mL des 20fach konzentrierten Waschpuffers (Premier 20X Wash Buffer II) + 95,0 mL destilliertes oder deionisiertes Wasser reichen zum Waschen eines Streifens aus. In eine saubere Spritzflasche füllen. Der Arbeits-Waschpuffer kann bei 21-27 C bis zu 3 Monate lang gelagert werden.
6. Mit jedem Testlauf muss eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitlaufen. Die Positivkontrolle wie geliefert verwenden, NICHT VERDÜNNEN.
7. Verwenden Sie die Klebefolie zum Verschließen der EIA-Platte während der Inkubationsschritte. Vor Gebrauch passend zurechtschneiden, dann den Papierrücken entfernen.

### PROBENNAHME UND-VORBEREITUNG (1:5 Probenverdünnung)

Stuhlproben in einen sauberen, luftdichten Behälter ohne Konservierungsmittel geben. Alle Stuhlproben sollten bei 2-8 C gelagert werden und so bald wie möglich analysiert werden. Idealerweise werden die Stuhlproben innerhalb von 24 Stunden analysiert, die Proben können jedoch bei 2-8 C bis zu 72 Stunden bis zur Analyse gelagert werden. Wenn die Proben nicht innerhalb von 72 Stunden analysiert werden können, sollten sie sofort nach Erhalt bei - 20 C oder kälter eingefroren werden. Einmaliges Einfrieren und Auftauen sollte das Ergebnis nicht beeinflussen.<sup>13</sup> Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden. Benutzen Sie nur den PROBENVERDÜNNUNGSPUFFER dieses Testkits zur Verdünnung der Proben. Die Proben können, wenn sie mit Probenverdünnungspuffer verdünnt wurden, in einem verschlossenen Reagenzglaschen bis zu 8 Stunden bei 2-8 C aufbewahrt werden.

1. 200 µL des Probenverdünnungspuffers mit dem Tropfer (oder Vergleichbarem) in ein sauberes Reagenzröhrchen füllen.

- Bei flüssigen oder halbfesten Stuhlproben:** mit einer Einmal-Transferpipette 50 µL Stuhl bis zur ersten Kalibrierungsmarkierung abmessen und in das Verdünnungsröhrchen mit Probenverdünnungspuffer geben. Die Transferpipette durch mehrmaliges Aufziehen und Ausdrücken ausspülen. Die Pipette entfernen, und die Suspension sorgfältig (15 Sekunden lang) auf dem Rüttler mischen, die Pipette in das Röhrchen zurückstecken.
  - Bei festen Stuhlproben:** mit einem Holzspatel eine kleine Portion der sorgfältig gemischten Stuhlprobe mit 3-4 mm Durchmesser in den Probenverdünnungspuffer geben. Den Stuhl mit dem Holzspatel aufemulgieren und dann 15 Sekunden lang auf dem Rüttler durchmischen. Eine Transferpipette in das Röhrchen stecken. Die Probe unmittelbar weiterverarbeiten.
- Die Stuhlproben können nach der Verdünnung zentrifugiert werden. Zentrifugieren Sie die Proben bei ungefähr 2750 G für 5 Minuten oder bis die festen Bestandteile sich von der Flüssigkeit trennen. Führen Sie den Test mit dem Überstand durch.



#### TESTDURCHFÜHRUNG

**ACHTUNG:** Bei großen Probenzahlen können für das Pipettieren der Reagenzien Mehrfach- oder Multikanal-Pipetten verwendet werden.

- Nachdem der Beutel 21-27 °C erreicht hat, die benötigte Anzahl von Mikrotiterkavitäten (eine Kavität pro Probe plus eine Positiv- und eine Negativkontrolle pro Testlauf) abrechnen. Die Kavitäten in die Halterung für die Streifen geben und den Platz jeder Kavität notieren. Unbenutzte Kavitäten müssen sofort wieder im Beutel verschlossen werden (siehe **HALTBARKEIT UND LAGERUNG**).
- Mit der ursprünglichen Transferpipette verdünnten Stuhl bis zur 100 µL Markierung (zweite Markierung von der Pipetten-Spitze) aufziehen und in die jeweilige Kavität geben (die Pipettenspitze halb in die Kavität einbringen und die Probe langsam an der Seite der Kavität hinunterlaufen lassen).
- Zwei freifallende Tropfen der Positivkontrolle und 100 µL (zweite Markierung von der Pipetten-Spitze) dem Probenverdünnungspuffer/Negativkontrolle in die dafür vorgesehenen Kavitäten geben.
- Einen frei-fallenden Tropfen des Enzym-Konjugats (50 µL) in alle Kavitäten geben. Die Kavitäten durch kräftiges Schütteln 30 Sekunden lang durchmischen.
- Die Klebefolie zum Verschließen der Platte passend zurechtschneiden und fest auf die Mikrokavitäten drücken. Die Platte 50 Minuten lang bei 35-39 °C inkubieren. **Alternativ dazu können Labors, die mit einem heizbaren Plattenrüttler (Stat Fax™-2200) ausgestattet sind, die Platte 20 Minuten lang bei 37 °C und 1000 rpm (Einstellung 5) inkubieren und rotieren lassen.**
- Die Folie vorsichtig entfernen und die Kavitäten waschen (siehe **VORBEREITUNG DER REAGENZIEN**):
  - Die Inhalte der Platte in ein Gefäß für potentiell pathogenen Abfall auskippen.
  - Die umgedrehte Platte auf einem sauberen Stapel Papiertücher ausklappen.
  - Alle Kavitäten mit Arbeits-Waschpuffer füllen, den Strahl des Puffers dabei auf die Wände der Kavitäten richten, um Schaumbildung zu vermeiden. Sofort mit Schritt 6d fortfahren.

**OPTIONAL: Ein halbautomatisches Waschgerät für Mikrotiterplatten kann wahlweise benutzt werden. Die geeignete Einstellung wählen um in Übereinstimmung mit den Herstelleranweisungen zu sein. Nachdem das automatischewaschen fertig ist, sofort mit Schritt 7 fortfahren.**

  - Den Waschzyklus (Auskippen, Ausklappen auf frischen Papiertüchern, Füllen) vier- bis sechsmal wiederholen (insgesamt 5-7 Waschrunden). Nach dem letzten Füllen die Platten auskippen und auf frischen Tüchern hart genug ausklappen, um soviel überschüssigen Waschpuffer wie möglich zu entfernen, die Kavitäten aber zu keiner Zeit vollständig austrocknen lassen.
- Die Unterseite aller Kavitäten mit einem fusselfreien Tuch säubern.
- Zwei frei fallende Substrattropfen I (100 µL) in jede Kavität geben.
- Die Platte 10 – 15 Sekunden lang kräftig schütteln, dann 10 Minuten lang bei 21-27 °C inkubieren.
- Zwei frei fallende Tropfen Stopplösung I (100 µL) in alle Kavitäten geben. Die Platte 30 Sekunden lang stark schütteln, um eine vollständige Durchmischung sicherzustellen. Nach der Zugabe von Stopplösung I zwei Minuten bis zum Ablesen warten (Schritt 11). **ACHTUNG:** Zunächst ist die Farbe bei positiver Reaktion blau, sie schlägt in gelb um, wenn Stopplösung I zugegeben wird.
- Die Reaktionen ablesen:
  - Ablesen mit bloßem Auge: innerhalb von 15 Minuten nach Zugabe der Stopplösung I ablesen
  - Spektrophotometrische Bestimmung: das EIA-Plattenlesegerät 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 Stopplösung I ablesen.

#### INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- Ablesen mit bloßem Auge**  
Negativ = farblos bis schwach (kaum sichtbar) gelb  
Positiv = deutlich gelbe Farbe
- Spektrophotometrische Bestimmung bei einfacher Wellenlänge (450 nm)**  
Negativ = OD<sub>450</sub> < 0,150  
Positiv = OD<sub>450</sub> ≥ 0,150
- Spektrophotometrische Bestimmung bei zweifacher Wellenlänge (450/630 nm)**  
Negativ = OD<sub>450/630</sub> < 0,100  
Positiv = OD<sub>450/630</sub> ≥ 0,100

Bei extrem stark positiver Reaktion kann sich ein purpurner Niederschlag innerhalb weniger Minuten nach Abstoppen der Reaktion bilden.

Ein positives Ergebnis zeigt das Vorkommen von *C. difficile* Toxin A und/oder B an. Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass keine Toxine A oder B vorhanden sind, oder dass ihre Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegen. Die Höhe des Extinktionswerts (OD) über dem Cut-off-Wert sagt nichts über den Schweregrad oder das Ausmaß der *C. difficile* Infektion aus.

#### QUALITÄTSKONTROLLE

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

- Positiv- und Negativkontrollen müssen in jedem Testlauf mitbestimmt werden, um die Qualität der Reagenzien und der Testdurchführung zu überprüfen. Es ist empfehlenswert, die Ergebnisse einer jeden Qualitätskontrolle in einem geeigneten Laborjournal festzuhalten, um die hohe Qualität der Testdurchführung und das Einhalten behördlicher Bestimmungen zu dokumentieren.
- Die Negativkontrolle sollte bei 450 nm < 0,150 und bei 450/630 nm < 0,100 aber größer als 0,00 sein. Wenn die Kontrolle < 0,00 ist, sollte das Platten-Photometer erneut gegen Luft abgeglichen werden und die Platte nochmals abgelesen werden.
- Wenn sie mit bloßem Auge abgelesen wird sollte die Negativkontrolle farblos bis schwach gelb sein.
- Die Positivkontrolle sollte < 2,999 aber > 0,600 sowohl bei 450 nm als auch bei 450/630 nm sein. Die Positivkontrolle sollte eine deutlich gelbe Farbe beim Ablesen mit bloßem Auge haben.
- Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, zur Ermittlung der Ursache des Versagens als Erstes die Kontrolltests wiederholen. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, bitten Sie den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Auslieferer.
- Jede positive Kavität ohne sichtbare Farbe sollte erneut eingesetzt, an der Unterseite abgewischt und nochmals abgelesen werden.
- Bei jedem Gebrauch sollten die Testbestandteile auf sichtbare Anzeichen von mikrobieller Verunreinigung, von Vereisungen oder von Undichtigkeiten untersucht werden.

#### ERWARTETE WERTE

Die Häufigkeit von Antibiotika-assoziiierter Diarrhoe, die von *C. difficile* verursacht wird, ist von mehreren Faktoren abhängig wie: von der Patientenzahl und der Epidemiologie. Die Inzidenz von *C. difficile*-assoziierten Erkrankungen bei Patienten mit Verdacht auf Antibiotika-assoziierte Diarrhoe wird mit 15-25%<sup>1</sup> angegeben, obwohl verschiedene Labors Positivitäten außerhalb dieses Bereichs finden können.

#### EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Premier Toxins A&B Test weist das Vorkommen der Toxine A und B von *Clostridium difficile* im Stuhl nach. Wenn der Nachweis von Toxin A oder Toxin B im Stuhl von Patienten mit Verdacht auf eine mit *C. difficile* assoziierte Erkrankung nicht gelingt, kann eine tatsächliche Erkrankung nicht ausgeschlossen werden. Dies kann vielmehr auf Fehler bei der Probenahme, -handhabung und -lagerung oder auf eine Toxin-Konzentration im Stuhl unter der Nachweisgrenze dieses Tests zurückzuführen sein. Der Premier Toxins A&B Test weist Toxin A in Konzentrationen  $\geq 1,4$  ng/mL Stuhl und Toxin B in Konzentrationen  $\geq 2,4$  ng/mL Stuhl nach. Die Reaktivität positiver Proben kann – wie es mit dem Premier Toxins A&B Test bestimmt wurde – mit der Zeit aufgrund eines Abbaus der Toxine abnehmen. Wie bei jedem diagnostischen Test sollten die Ergebnisse des Premier Toxins A&B Tests unter Berücksichtigung der Patientenanamnese und anderer klinischer und Laborbefunde interpretiert werden.
- Das Leistungsprofil dieses Tests wurde nicht für pädiatrische Populationen bestimmt.<sup>14</sup>
- Bestimmte Stämme von *C. sordellii* bilden ein Toxin, das immunologisch mit den *C. difficile* Toxinen A und B kreuzreagiert. *C. sordellii* wurde bisher nicht isoliert, der Erreger wurde jedoch in Stuhlproben von Patienten mit einer Antibiotika-assoziierten Diarrhoe oder pseudomembranösen Kolitis gleichzeitig mit *C. difficile* gefunden.<sup>15, 16</sup>
- Obwohl relativ stabil bei 2 bis 8 °C, können die Toxine von *C. difficile* sich bei Raumtemperatur, besonders bei schwacher Konzentration, leicht beschädigen. Die Geschwindigkeit der Toxin-Beschädigung ist von einer Probe zu anderen unterschiedlich. Die Geschwindigkeit der Toxin-Beschädigung kann nicht bestätigt werden. Aus diesem Grund sollten die Proben in den folgenden zwei Stunden nach Probenahme gekühlt oder eingefroren werden. Die Proben sollten in dem Zeitraum, wie in der Packungsbeilage empfohlen, getestet werden. Testen Sie keine Proben, die nicht korrekt entnommen, gehandhabt oder transportiert wurden.

#### LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsfähigkeit des Premier Toxins A&B Tests wurde in einer klinischen Studie an zwei Zentren in den USA überprüft. Sie wurde mit dem Test auf zelluläre Zytotoxizität verglichen, abweichende Ergebnisse wurden anhand von Kulturen auf toxische Keime und mit einem Konkurrenz-EIA auf Toxin A und B endgültig bewertet.

Premier Toxins A&B Ergebnisse	Ergebnisse des Zytotoxin-Tests Zentrum 1		Ergebnisse des Zytotoxin-Tests Zentrum 2		Ergebnisse des Zytotoxin-Tests alle Zentren	
	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.	Pos.	Neg.
Pos.	55	7	35	6	90	13
Neg.	3	257	2	208	5	465
Leistungsstatistik	Wert	95% VI*	Wert	95% VI*	Wert	95% VI*
Sensitivität	94,8%	85,6-98,9%	94,6%	81,8-99,3%	94,7%	88,1-98,3%
Spezifität	97,3%	94,6-98,9%	97,2%	94,0-99,0%	97,3%	95,4-98,5%
Positiver prädiktiver Wert	88,7%	78,1-95,3%	85,4%	70,8-94,4%	87,4%	81,0-93,8%
Negativer prädiktiver Wert	98,8%	96,7-99,8%	99,0%	96,6-99,9%	98,9%	97,5-99,7%
Korrelation	96,9%	94,4-98,5%	96,8%	93,8-98,6%	96,9%	95,1-98,1%

\*VI= Vertrauensintervall

Die Leistungsfähigkeit des Premier Toxins A&B Tests war in beiden Studienzentren gleichwertig. Die Gesamtsensitivität und -spezifität verglichen mit der Referenz-Zytotoxin-Methode lag bei 94,7% bzw. 97,3%. Die Untersuchung der 13 falsch positiven Proben ergab, dass eine dieser Proben in der Kultur auf toxische *C. difficile* positiv war (d.h. in dieser Kultur wurde ein *C. difficile*-Stamm isoliert, der beide Toxine A und B produzierte). Vier andere Proben waren im Konkurrenz-EIA auf Toxin A und B positiv. Für fünf von 13 (38%) falsch positiven Proben gibt es also zusätzlich unabhängige Beweise für das Vorkommen von toxischen *C. difficile*. Die Kultur auf toxische Keime war bei drei von fünf Proben, die im Premier Toxin A&B Test negativ und im Zytotoxin-Test positiv waren, negativ. Hinzu kommt, dass alle fünf Proben im Konkurrenz-EIA auf Toxin A und B negativ waren.

Ein Konkurrenz-EIA (Wampole™ Laboratories) auf Toxin A und B wurde in jedem Studienzentrum parallel durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mit dem Zytotoxin-Test und dem Premier Toxins A&B Test verglichen (s. unten)

Ergebnisse des Premier Toxins A&B Tests	Wampole A/B EIA	
	Pos.	Neg.
Pos.	92	11
Neg.	9	461
Relative Leistungsfähigkeit	Wert	95% VI
Co-Positivität	91,1%	93,8-95,8%
Co-Negativität	97,7%	95,6-98,7%
Übereinstimmung	96,5%	94,5-97,7%

Ergebnisse des Wampole Toxins A/B Tests	Ergebnisse des Zytotoxintests	
	Pos.	Neg.
Pos.	88	13
Neg.	7	465
Leistungsstatistik	Wert	95% VI
Sensitivität	92,6%	84,5-97,0%
Spezifität	97,3%	95,4-98,5%
Positiver prädiktiver Wert	87,1%	80,6-93,7%
Negativer prädiktiver Wert	98,5%	97,0-99,4%
Korrelation	96,5%	94,7-97,9%

Die Übereinstimmung zwischen den beiden EIAs auf Toxin A und B betrug 96,5%. Zwei der 11 Proben, die im Premier Toxins A&B Test positiv und im Konkurrenz-EIA negativ waren, waren im Zytotoxin-Test positiv und bei einer weiteren Probe konnten toxische Keime in der Kultur nachgewiesen werden. Keine der 9 Proben, die im Konkurrenz-EIA positiv und im Premier Toxins A&B Test negativ waren, waren im Zytotoxin-Test positiv.

Wampole™ ist ein Warenzeichen der Wampole Laboratories

#### REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des Premier Toxins A&B Tests wurde anhand von negativen, schwach, mittel und stark positiven Proben und Kontrollen gemessen. Dabei wurden je drei Aliquots der Proben bzw. Kontrollen in drei verschiedenen Testläufen an drei Zentren analysiert. Die Variabilität innerhalb eines Testlaufs (intra-assay variance oder variability or variation) sowie zwischen den Testläufen (inter-assay variance) wurde berechnet und ist unten angegeben.

Varianz	Positiv Kontrolle	Negativ Kontrolle	Stark Positiv	Mittel Positiv	Schwach Positiv	Negativ
Mittler Extinktion						
Varianz innerhalb eines Testlaufs	2,010	0,013	2,250	1,146	0,280	0,009
Varianz zwischen den Testläufen	4,1%	24,5%	7,3%	6,9%	15,9%	28,9%
	7,0%	16,2%	6,2%	13,9%	14,6%	31,7%

#### KREUZREAKTIVITÄT

Die Spezifität des Premier Toxins A&B Tests wurde mit den folgenden Bakterien- und Virus-Stämmen überprüft. Positive und negative Stuhlproben wurden mit  $\geq 1 \times 10^8$  Bakterien/mL beimpft und mit dem Premier Toxins A&B Test getestet. Die einzigen Mikroorganismen außer *C. difficile*, die im Premier Toxins A&B-Test positiv waren, waren zwei Stämme von *Clostridium sordellii*, ATCC 9714 und VPI 9048. Beide Stämme produzieren die zu den Toxinen A und B homologen HT bzw. LT. Alle anderen Organismen zeigten nach Überimpfung in negative Stühle negative Ergebnisse. Sie zeigten zudem keine Wechselwirkungen mit den positiven Proben.<sup>13</sup>

#### Die untersuchten Mikroorganismen oder Viren (Anzahl der untersuchten Stämme)

Adenovirus 40 & 41 (2)	<i>Aeromonas hydrophila</i> (1)	<i>Bacillus cereus</i> (1)
<i>Bacillus subtilis</i> (1)	<i>Bacteroides fragilis</i> (1)	<i>Campylobacter coli</i> (1)
<i>Campylobacter jejuni</i> (1)	<i>Candida albicans</i> (1)	<i>Clostridium butyricum</i> (1)
<i>Clostridium difficile</i> non-tox.(7)	<i>Clostridium haemolyticum</i> (1)	<i>Clostridium histolyticum</i> (1)
<i>Clostridium novyi</i> (1)	<i>Clostridium perfringens</i> (1)	<i>Clostridium septicum</i> (1)
<i>Clostridium sporogenes</i> (1)	<i>Clostridium tetani</i> (1)	<i>Enterobacter aerogenes</i> (1)
<i>Enterobacter cloacae</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (3)	<i>Helicobacter pylori</i> (1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> (1)	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> (1)
<i>Proteus vulgaris</i> (1)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1)	Rotavirus (1)
<i>Salmonella typhimurium</i> (1)	<i>Serratia liquefaciens</i> (1)	<i>Shigella dysenteriae</i> (1)
<i>Shigella flexneri</i> (1)	<i>Shigella sonnei</i> (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I) (1)	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (1)	<i>Streptococcus faecalis</i> (1)
<i>Vibrio cholerae</i> (1)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (1)	<i>Yersinia enterocolitica</i> (1)

### ASSAY-REAKTIVITÄT

Der Premier Toxins A&B-Test wurde auch mit mehreren Referenzstämmen von *C. difficile* überprüft. Die Stämme wurden in BHI-Nährlösung 48 Stunden lang gezüchtet und mit dem Premier Toxins A&B-Test auf Reaktivität überprüft. Die Ergebnisse sind unten zusammengefasst. Sie zeigen, dass der Test alle toxischen Stämme von *C. difficile* korrekt identifizierte, sogar diejenigen, die nur Toxin B produzieren. Es wurde keine Kreuzreaktivität mit nichttoxischen Stämmen von *C. difficile* beobachtet.

<i>C. difficile</i> Art	Anzahl von Premier Toxins A&B Test positiven Proben/ Gesamtproben (% richtig)
A+ / B+	25/25 (100%)
A- / B+	3/3 (100%)
A- / B-	0/14 (100%)

### STÖRSUBSTANZEN-TESTS

Die Ergebnisse des Premier Toxins A&B-Tests werden durch Blut, Bariumsulfat, Metronidazol oder Vancomycin in den Stuhlproben nicht beeinflusst.<sup>15</sup>

Die folgenden Substanzen beeinflussten die Ergebnisse nicht, wenn sie in den angegebenen Konzentrationen in Stuhlproben enthalten waren: Bariumsulfat (Eine Stuhlprobe wurde im Verhältnis 1:2 mit einer 10% Bariumsulfat Lösung verdünnt), Metronidazol (2,8 µg/Vertiefungen), Vancomycin (2,8 µg/Vertiefungen), und Vollblut (50%).

### REFERENCES

- Bartlett JG. *Clostridium difficile*: clinical considerations. Rev Infect Dis. 1990;12 S243-S251.
- Bartlett JG, TW Chang, M Gurwith, SL Gorbach and AB Onderdonk. Antibiotic associated pseudomembranous colitis due to toxin producing clostridia. N Engl J Med 1978;298: 531-534.
- George WL, VL Sutter, EJC Goldstein, SL Ludwig and SM Finegold. Aetiology of anti-microbial agent associated colitis. Lancet. 1978;1: 802-803.
- Rolle RD. Asymptomatic intestinal colonization by *Clostridium difficile*. In: RD Rolfe and SM Finegold (eds.). *Clostridium difficile*: its role in intestinal disease. Academic Press, Inc. New York. 1988.
- McFarland LV, ME Mulligan, RYY Kwok and WE Stamm. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. New Engl J Med. 1989;320:204-210.
- Johnson S, A Adelman, CR Clabots, LR Peterson, DN Gerding. Recurrences of *Clostridium difficile* diarrhea not caused by the original infecting organism. J Infect Dis. 1989;159 (2):340-343.
- Sullivan NM, S Pellett, TD Wilkins. Purification and characterization of Toxins A and B of *Clostridium difficile*. Infect Immun. 1982;35(3): 1032-1040.
- Lyerly DM, CJ Phelps, J Toth and TD Wilkins. Characterization of toxins A and B of *Clostridium difficile* with monoclonal antibodies. Infect Immun. 1986;54(1):70-76.
- Lyerly DM, CJ Phelps, and TM Wilkins. Monoclonal and specific polyclonal antibodies for immunoassay of *Clostridium difficile* Toxin A. J Clin Microbiol. 1985;21(1): 12-14.
- Chang TW, M Lauerhmann and JG Bartlett. Cytotoxicity assay in antibiotic-associated colitis. J Infect Dis. 1980;140:765-770.
- Lyerly DM, KE Saum, DK McDonald, and TD Wilkins. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. Infect Immun. 1985;47:349-352.
- Meador J, and RK Tweten. Purification and characterization of toxin B from *Clostridium difficile*. Infect Immun. 1988;56(7):1708-1714.
- Data on file, Meridian Bioscience, Inc.
- Cooperstock, M. *Clostridium difficile* in infants and children. In: RD Rolfe and SM Finegold (eds.). *Clostridium difficile*: its role in intestinal disease. Academic Press, Inc. New York. 1988.
- Lyerly DM and TD Wilkins. Purification and properties of toxins A and B of *Clostridium difficile*. In: RD Rolfe and SM Finegold (eds.). *Clostridium difficile*: its role in intestinal disease. Academic Press, Inc. New York. 1988.
- Willey SH and JG Bartlett. Culture for *Clostridium difficile* in stools containing a cytotoxin neutralized by *Clostridium sordellii* antitoxin. J Clin Micro. 1979;10: 860-864.



SN11161

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, Guía de símbolos, Erläuterung der graphischen symbole)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	<b>CONTROL +</b>	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
<b>LOT</b>	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	<b>CONTROL -</b>	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
<b>IVD</b>	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	<b>EC REP</b>	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
<b>CE</b>	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-Diagnostika	<b>SMP PREP DIL SPE</b>	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 Probenverarbeitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
<b>REF</b>	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence ou catalogue / Numero 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	<b>BUF RXN</b>	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / 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	<b>SOLN STOP</b>	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Límites de temperatura / Temperaturbegrenzung	<b>CONJ ENZ</b>	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Coniugado enzimático / Enzymkonjugat
<b>SN</b>	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	<b>CONTROL</b>	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
<b>TEST</b>	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	<b>REAG</b>	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	<b>BUF WASH</b>	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
<b>BUF</b>	Buffer / Soluzione tamponne / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
<b>CONJ</b>	Conjugate / Coniugato / Coniugé / Coniugado / Konjugat	<b>DIL SPE</b>	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
<b>SUBS</b>	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	<b>BUF WASH 20X</b>	Wash Buffer Concentration: 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
		<b>DET REAG</b>	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Détection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagent

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.