

IDK[®] Hb-Hp-Komplex ELISA

Zur in-vitro-Bestimmung des Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexes in Stuhl

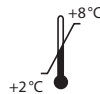
IDK[®] Hb/Hp complex ELISA

For the in vitro determination of hemoglobin/haptoglobin complex in stool

Gültig ab / Valid from 2022-02-17

REF K 7837D

Σ 96



IVD

CE

REF K 7837D.20

Σ 20 x 96



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Inhalt

1. VERWENDUNGSZWECK	2
2. EINLEITUNG	2
3. INHALT DER TESTPACKUNG	2
4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	3
5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	4
6. PROBENVORBEREITUNG UND -LAGERUNG	5
<i>Stuhlprobenextraktion</i>	5
<i>Lagerung der Proben</i>	6
7. TESTDURCHFÜHRUNG	6
<i>Testprinzip</i>	6
<i>Pipettierschema</i>	7
8. ERGEBNISSE	8
9. EINSCHRÄNKUNGEN	8
10. QUALITÄTSKONTROLLE	9
<i>Referenzwerte</i>	9
11. TESTCHARAKTERISTIKA	9
<i>Genauigkeit - Präzision</i>	9
<i>Genauigkeit - Richtigkeit</i>	10
<i>Linearität</i>	10
<i>Analytische Sensitivität</i>	11
<i>Analytische Spezifität</i>	11
12. VORSICHTSMASSNAHMEN	12
13. TECHNISCHE MERKMALE	12
14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	13
15. LITERATUR	13
<i>Allgemeine Literatur</i>	13
<i>Publikationen mit dem IDK® Hb-Hp-Komplex ELISA</i>	14

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung des Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexes in Stuhl geeignet. Nur zur *in-vitro*-Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Der Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex kann als Marker für gastrointestinale Blutungen verwendet werden. Die Untersuchung okkulten Blutes wird in den meisten Fällen zur Erkennung kolorektaler Karzinome durchgeführt. Der immunologische Test für den Nachweis des Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexes im Stuhl basiert auf Antikörpern, die spezifisch das humane Molekül erkennen und damit im Gegensatz zu den Schnelltests den Vorteil bieten, dass sie ernährungsunabhängige Resultate liefern.

Indikationen

- Nachweis von Blutungsquellen im unteren Gastrointestinaltrakt
- Marker für Colitis Ulcerosa bzw. Morbus Crohn
- Nachweis kolorektaler Karzinome
- Nachweis kolorektaler Polypen

3. INHALT DER TESTPACKUNG

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge für Art.-Nr.	
			K 7837D	K 7837D.20
K 7837D	PLATE	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen	20 x 12 x 8 Vertiefungen
K 0001.C.100	WASHBUF	Waschpufferkonzentrat, 10x	2 x 100 ml	40 x 100 ml
K 7837D	CONJ	Konjugat, (Maus-anti-human-Hb, peroxidase markiert), gebrauchsfertig	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 7837D	CAL	Kalibrator, lyophilisiert (Konzentration der Spezifikation entnehmen)	2 x 1 vial	25 x 1 vial

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge für Art.-Nr.	
			K 7837D	K 7837D.20
K 7837D	HC	Hohe Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Spezifikation entnehmen)	2 x 1 vial	25 x 1 vial
K 7837D	LC	Niedrige Kontrolle, lyophilisiert (Bereich der Spezifikation entnehmen)	2 x 1 vial	25 x 1 vial
K 7837D	SAMPLEBUF	Probenverdünnungspuffer, gebrauchsfertig	2 x 15 ml	3 x 100 ml
K 0002.15	SUB	Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 6999.C.100	IDK Extract®	Extraktionspufferkonzentrat <i>IDK Extract®</i> , 2,5 x	1 x 100 ml	-

Für Nachbestellungen von Einzelkomponenten verwenden Sie als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung.

4. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Reinstwasser*
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10–1000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Vortex-Mixer
- Zentrifuge, 3000 g

- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer (benötigte Filter siehe Kapitel 7)
 - * Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz des Kits darauf, dass die Reagenzien wie auf dem Etikett angegeben gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4x je nach Probenaufkommen bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- **Vorbereitung des Waschpuffers:** Das **Waschpufferkonzentrat (WASHBUF)** muss vor Gebrauch **1:10** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur bzw. im Wasserbad bei 37 °C auf. Das bei **2–8 °C** gelagerte **WASHBUF** kann bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden. Der **Waschpuffer** (1:10 verdünntes WASHBUF) ist **1 Monat bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- **Vorbereitung des Extraktionspuffers:** Das **Extraktionspufferkonzentrat IDK Extract®** muss vor Gebrauch **1:2,5** in Reinstwasser verdünnt werden (100 ml *IDK Extract®* + 150 ml Reinstwasser), gut mischen. Aufgrund des hohen Salzgehalts im Konzentrat kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich im Wasserbad bei 37 °C auf. Das bei **2–8 °C gelagerte IDK Extract®** kann bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden. Der **Extraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes *IDK Extract®*) ist **4 Monate bei 2–8 °C** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- **Der lyophilisierte Kalibrator (CAL)** und die **Kontrollen (HC und LC)** sind bei **2–8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. CAL, HC und LC werden mit **500 µl Reinstwasser** rekonstituiert und kurz geschwenkt, um eine vollständige Rekonstitution zu gewährleisten. Sie werden zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen und anschließend gründlich gemischt. **Kalibrator und Kontrollen** (rekonstituierte CAL, HC und LC) **können 4 Wochen bei 2–8 °C gelagert werden**.
- **Als Leerwert (BLANK)** werden **50 µl Probenverdünnungspuffer (SAMPLE-BUF)** pipettiert.

- Alle anderen Testreagenzien sind gebrauchsfertig und, bei **2–8 °C** gelagert, bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

6. PROBENVORBEREITUNG UND -LAGERUNG

Stuhlprobenextraktion

Der **Extraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes *IDK Extract*®) wird als Probenextraktionspuffer verwendet. Wir empfehlen folgende Probenvorbereitung:

Stuhlprobenaufbereitungssystem (SAS) (Artikel-Nr. K 6998SAS)

Stuhlprobenröhrchen - Anwendung

Bitte beachten Sie, dass der Verdünnungsfaktor der Stuhlsuspension von der aufgenommenen Stuhlmenge und dem Puffervolumen abhängig ist:

SAS mit 1,5 ml Extraktionspuffer:

Aufgenommene Stuhlmenge:	15 mg
Puffervolumen:	1,5 ml
Verdünnungsfaktor:	1:100

Die Aufbereitung von Stuhlproben mit Hilfe des SAS wird wie folgt durchgeführt:

- a) Die Rohprobe muss aufgetaut sein, bei auffallend inhomogenen Proben empfiehlt sich eine mechanische Homogenisierung durch Spatel, Impföse o. Ä.
- b) Das **unbefüllte Stuhlprobenröhrchen** vor der Verwendung mit **1,5 ml Probenextraktionspuffer** (1:2,5 verdünntes *IDK Extract*®) **befüllen**. **Wichtig:** Probenextraktionspuffer vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen!
- c) Röhrchen aufschrauben (gelbes Gewinde), der untere Teil des Stäbchens weist Einkerbungen auf, welche durch Einstechen in die Stuhlprobe vollkommen mit Probe bedeckt werden müssen. Anschließend das Stäbchen durch den Abstreifring zurück ins Röhrchen stecken (leichter Widerstand) und fest verschrauben.
- d) Das Röhrchen solange vortexen bis keine Stuhlreste mehr in den Einkerbungen auszumachen sind. **Wichtig:** Für die Erhebung valider Messwerte ist darauf zu achten, dass die Stuhlsuspension nach dem Mischungsprozess eine möglichst homogene Konsistenz aufweist. Bei besonders festen Stühlen kann die Homogenität der Suspension durch längeres Einweichen (ca.

10 min) des Stuhls im Probenextraktionspuffer bedeutend gesteigert werden.

- e) Nach erfolgter Suspendierung der Probe wird das Röhrchen ca. 10 Minuten stehen gelassen. Aufschwimmende Schalen von Körnern u. Ä. können hierbei vernachlässigt werden.
- f) Anschließend wird der gesamte Kopf des Stuhlprobenröhrchens (blauer Ring) zusammen mit dem Stäbchen vorsichtig abgeschraubt und verworfen. Beim Abschrauben des Kopfes ist darauf zu achten, dass das abgesetzte Sediment nicht erneut aufgewirbelt wird.

Die suspendierte Probe ist nun für die Verwendung im ELISA bereit. Die Probe kann auch in einen Pipettierautomaten eingesetzt werden. Dazu wird die Probe an die in der Arbeitsliste definierte Position im Samplerack gestellt.

Lagerung der Proben

Wegen des Abbaus von Hämoglobin-Haptoglobin bei Raumtemperatur, der bis zu 50% pro Tag ausmachen kann, sollte der Transport des **Rohstuhls** nach Möglichkeit gefroren erfolgen. Ist der Transport weder bei -20°C noch gekühlt möglich, können die Proben mit Postversand über Nacht geschickt werden, wodurch man jedoch an Sensitivität verliert. Der Rohstuhl kann 1 Monat bei -20°C gelagert werden.

Stuhlextrakt ist bei Raumtemperatur (15–30°C), 2–8°C sowie bei -20°C sieben Tage haltbar. Die Extrakte sollten maximal drei Einfrier-/Auftauzyklen unterzogen werden.

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Testprinzip

Dieser ELISA dient zur quantitativen Bestimmung des humanen Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexes im Stuhl. Kalibrator, Kontrollen und Proben werden in die mit anti-Haptoglobin-Antikörpern beschichteten Vertiefungen der Mikrotiterstreifen gegeben. Nach einer Inkubation werden nichtgebundene Komponenten entfernt. Das gebundene Antigen wird mittels eines Antikörper-POD/TMB-Systems nachgewiesen. Die Quantifizierung erfolgt durch Bestimmung der Extinktion bei 450 nm. Anhand eines mitgeführten Kalibrators und dessen Bezug zu einer chargenabhängigen Musterkalibrierkurve lässt sich die Konzentration der Probe ermitteln.

Pipettierschema

Vor Gebrauch **alle Reagenzien und Proben** auf **Raumtemperatur** (15–30 °C) bringen, gut mischen.

Markieren Sie die Positionen für Kalibrator/Kontrollen/Proben im Protokollblatt.

Die benötigten Mikrotiterstreifen aus dem Kit nehmen. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen müssen zusammen mit dem Trockenmittelbeutel in der verschlossenen Aluminiumverpackung bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum bei 2–8 °C gelagert werden.

Im Fall einer automatisierten Abarbeitung des Tests können automaten-spezifische Anpassungen der Prozedur notwendig sein, um den jeweiligen technischen Gegebenheiten gerecht zu werden. Für Unterstützung und Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihren Anbieter oder Immundiagnostik AG.

Wir empfehlen, die Bestimmungen in Doppelwerten durchzuführen.

1.	Die Vertiefungen vor Gebrauch 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
2.	50 µl Probenverdünnungspuffer (SAMPLEBUF) in jede Vertiefung vorlegen.
3.	50 µl Kalibrator/Kontrollen/Leerwert/verdünnte Proben in die jeweiligen Vertiefungen pipettieren.
4.	Streifen abdecken und 1 Stunde bei Raumtemperatur (15–30 °C) inkubieren.
5.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
6.	100 µl Konjugat (CONJ) in jede Vertiefung pipettieren.
7.	Streifen abdecken und 1 Stunde bei Raumtemperatur (15–30 °C) inkubieren.
8.	Inhalt der Vertiefungen verwerfen und 5 x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
9.	100 µl Substrat (SUB) in jede Vertiefung pipettieren.
10.	10–20 min* bei Raumtemperatur (15–30 °C) im Dunkeln inkubieren.

11.	100 µl Stopplösung (STOP) in jede Vertiefung pipettieren, gut mischen.
12.	Extinktion sofort im Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gemessen. Falls die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

8. ERGEBNISSE

Für die Auswertung der Messwerte verwenden Sie bitte ein 4-parametrisches Logit-Log-Modell unter Verwendung der Angaben zu dem Verlauf der Kalibrationskurve sowie der optischen Dichte des Kalibrators (CAL), welche auf dem QC-Datenblatt der jeweiligen Kitcharge zu finden sind.

Abhängig von der verwendeten Software kann der Kalibrationskurvenverlauf sowohl durch die Parameter A, B, C und D als auch durch die Wertepaare aus Konzentration und optischer Dichte der Standards beschrieben werden.

Achtung: Die Parameterwerte müssen genau eingegeben werden, da selbst geringe Abweichungen der Zahlenwerte zu massiven Störungen der Auswertung führen können.

Vor jeder automatischen Auswertung sollte stets eine Kontrolle der Doppelwerte auf Plausibilität („Ausreißerkontrolle“) durchgeführt werden; falls dies nicht durch das verwendete Programm erfolgt, sollte die Kontrolle manuell durchgeführt werden.

Stuhlproben:

Da die Probenverdünnung in der Standardkurve bereits berücksichtigt wurde, ist der Verdünnungsfaktor gleich 1.

Sollte ein **anderer Verdünnungsfaktor** verwendet worden sein, so ist die ermittelte Konzentration mit dem verwendeten Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

9. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit Konzentrationen oberhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können stärker verdünnt und erneut gemessen werden. Bitte beachten Sie diese stärkere Verdünnung bei der Ergebnisberechnung.

Proben mit Konzentrationen unterhalb des Messbereichs (Definition siehe unten) können nicht klar quantifiziert werden.

Die Obergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

$$\text{höchste Konzentration der Standardkurve} \times \text{anzuwendender Probenverdünnungsfaktor}$$

Die Untergrenze des Messbereichs ergibt sich aus:

$$\text{LoQ} \times \text{anzuwendender Probenverdünnungsfaktor}$$

LoQ siehe Kapitel „Testcharakteristika“.

10. QUALITÄTSKONTROLLE

Immundiagnostik AG empfiehlt den Einsatz von externen Kontrollen für die interne Qualitätskontrolle, wenn möglich.

Wir empfehlen, bei jedem Testansatz Kontrollen mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches, kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Messergebnisse nicht gewährleisten.

Referenzwerte

Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex-Konzentration (Stuhl)*: **< 2 µg/ml** $\hat{=}$ **< 2 µg/g**
(1 g Stuhl $\hat{=}$ 1 ml)

* H.G. Bischoff et al., 1990. Okkultes Blut im Stuhl: Empfindlicher und spezifischer Nachweis durch immunologische Bestimmung von Human-Albumin und -Hämoglobin. *Ärztl. Lab.*, **36**. pp. 101–112.

Wir empfehlen jedem Labor, einen eigenen Referenzbereich zu etablieren.

11. TESTCHARAKTERISTIKA

Genauigkeit - Präzision

Wiederholbarkeit (Intra-Assay); n = 42

Die Wiederholbarkeit wurde mit 2 Stuhlproben unter **gleichbleibenden** Bedingungen (Bediener, Messgerät, Tag, Kitcharge identisch) bestimmt.

Probe	Mittelwert [µg/g]	VK [%]
1	8,31	3,9
2	3,88	2,5

Reproduzierbarkeit (Inter-Assay); n = 30

Die Reproduzierbarkeit wurde mit 2 Kontrollproben unter **variablen** Bedingungen (Bediener, Messgeräte, Tage, Kitchargen unterschiedlich) bestimmt.

Probe	Mittelwert [$\mu\text{g/g}$]	VK [%]
1	1,16	4,5
2	4,20	2,7

Genauigkeit - Richtigkeit

Die Richtigkeit gibt das Verhältnis zwischen dem Messergebnis und der wahren Konzentration einer Probe an.

2 Stuhlproben wurden dafür mit bekannten Hb-Hp-Komplex-Konzentrationen versetzt und gemessen.

Probe	Spike [$\mu\text{g/g}$]	Erwartet [$\mu\text{g/g}$]	Gemessen [$\mu\text{g/g}$]	Wiederfindung [%]
0,414	9,55	9,93	10,26	103,36
	5,30	5,70	6,62	116,17
	2,70	3,11	3,72	119,63
	1,20	1,61	1,87	115,86
0,922	9,55	10,40	8,40	80,75
	5,30	6,19	5,39	87,10
	2,70	3,61	3,74	103,80
	1,20	2,12	2,03	95,90

Linearität

Die Linearität zeigt die Fähigkeit einer Methode, ein Ergebnis proportional zur Analytkonzentration in einer Probe zu liefern. Sie wurde gemäß CLSI-Richtlinie EP6-A mittels einer serieller Verdünnung von 2 Stuhlproben nachgewiesen.

Für Hb-Hp-Komplex in Stuhl wurde ein lineares Verhalten im Bereich von 1,09 bis 24,86 $\mu\text{g/g}$ nachgewiesen. Die Nicht-Linearität lag bei weniger als $\pm 20\%$.

Probe	Verdünnung	Erwartet [µg/g]	Gemessen [µg/g]	Wieder- findung [%]
A	unverdünnt	24,86	24,86	100,00
	1:2	12,43	12,91	103,87
	1:4	6,21	7,10	114,25
	1:8	3,11	3,64	117,05
	1:16	1,55	1,82	117,09
B	unverdünnt	8,69	8,69	100,00
	1:2	4,34	4,28	101,40
	1:4	2,17	2,45	88,73
	1:8	1,09	1,27	85,58

Analytische Sensitivität

Die im Folgenden aufgeführten Werte wurden in Bezug auf die Standardkurve ohne Berücksichtigung eventuell verwendeter Probenverdünnungsfaktoren ermittelt.

Leerwert (*limit of blank*, LoB) 0,033 µg/g

Nachweisgrenze (*limit of detection*, LoD) 0,158 µg/g

Bestimmungsgrenze (*limit of quantitation*, LoQ) 0,248 µg/g

Die Auswertung wurde gemäß der CLSI-Richtlinie EP17-A2 durchgeführt. Das festgelegte Präzisionsziel für die Bestimmungsgrenze lag bei 20 % VK.

Analytische Spezifität

Die Spezifität wurde nachgewiesen durch Bestimmung der Kreuzreaktivität zu 5 strukturell ähnlichen Substanzen. Es wurde keine Kreuzreaktivität nachgewiesen.

Getestete Substanz	Eingesetzte Konzentration	Gefundene Konzentration [µg/g]	Fazit
Pankreatische Amylase	28 000 mU/l	0.000	< LoB
MPO	100 ng/ml	0.016	< LoB
Lysozym	500 ng/ml	0.006	< LoB
Chymotrypsin	1 000 ng/ml	0.011	< LoB
slgA	600 ng/ml	0.008	< LoB

12. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *in-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Kitkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder ProClin. Natriumazid bzw. ProClin sind gesundheitsgefährdend und umweltschädlich. Auch Substrate für enzymatische Farbreaktionen können zu Haut- und/oder Atemwegsreizungen führen. Jeder Kontakt mit den Substanzen ist zu vermeiden. Weiterführende Sicherheitsinformationen sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen, welches Sie auf Anfrage bei der Immundiagnostik AG erhalten.
- Das 10x Waschpufferkonzentrat (WASHBUF) enthält Tenside, welche bei Augenkontakt zu schweren Augenreizungen führen können.

Achtung: Verursacht schwere Augenreizung. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure (H_2SO_4). H_2SO_4 ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht benutzt werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden. Dämpfe nicht einatmen und Inhalation vermeiden.

13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden. Ferner dürfen Kavitäten unterschiedlicher Mikrotiterplatten, selbst der gleichen Charge, nicht zusammengefügt und zur Analyse verwendet werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Kitverpackung angegebenen Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während der Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.
- Vermeiden Sie Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Der Assay ist immer nach der dem Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.

14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD-Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- *IDK®* und *IDK Extract®* sind Marken der Immundiagnostik AG.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurück zu senden.

15. LITERATUR

Allgemeine Literatur













1. Lüthgens, K. et al., 1998. Hemoglobin-Haptoglobin-Complex: A Highly Sensitive Assay for the Detection of Fecal Occult Blood. *Clinical laboratory*, **44**, pp.543–551.
2. Thomas, L., 1998. Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik **5th ed.**, Frankfurt/Main: *TH-Books Verlagsgesellschaft*.

3. John, M. et al., 1994. Nachweis von Albumin im Stuhl zur Erkennung okkultur Blutungen : Vergleich zweier immunologischer Tests . Radiale Immundiffusion vs BM-Test Colon Albumin. *Klinisches Labor*, **40**, pp.77–81.

Publikationen mit dem IDK® Hb-Hp-Komplex ELISA

4. Chalkias, A. et al., 2011. Patients with colorectal cancer are characterized by increased concentration of fecal hb-hp complex, myeloperoxidase, and secretory IgA. *American journal of clinical oncology*, **34**(6), pp.561–6.

Verwendete Symbole:

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Achtung		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		Reizend

IDK[®] Hb/Hp complex ELISA

For the in vitro determination of hemoglobin/haptoglobin complex in stool

Valid from 2022-02-17

REF **K 7837D**

Σ 96

REF **K 7837D.20**

Σ 20 x 96



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

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: info@immundiagnostik.com

www.immundiagnostik.com

Table of Contents

1. INTENDED USE	17
2. INTRODUCTION	17
3. MATERIAL SUPPLIED	17
4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	18
5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	19
6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES	20
<i>Extraction of the stool samples</i>	20
<i>Sample stability and storage</i>	21
7. ASSAY PROCEDURE	21
<i>Principle of the test</i>	21
<i>Test procedure</i>	21
8. RESULTS	23
9. LIMITATIONS	23
10. QUALITY CONTROL	24
<i>Reference range</i>	24
11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	24
<i>Accuracy – Precision</i>	24
<i>Accuracy – Trueness</i>	25
<i>Linearity</i>	25
<i>Analytical sensitivity</i>	26
<i>Analytical specificity</i>	26
12. PRECAUTIONS	26
13. TECHNICAL HINTS	27
14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	27
15. REFERENCES	28
<i>General literature</i>	28
<i>Literature using the IDK® Hb/Hp complex ELISA</i>	28

1. INTENDED USE

This Immundiagnostik AG assay is an enzyme immunoassay intended for the quantitative determination of hemoglobin/haptoglobin complex in stool. For *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

In contrast to commercially available rapid tests, this hemoglobin/haptoglobin complex ELISA does not require previous adherence to a diet (no raw meat etc.) and recognises human hemoglobin/haptoglobin complex in 100-fold lower concentrations. This avoids false-negative results. Because of the antibodies used, false-positive results are almost excluded. Recent data show that the hemoglobin/haptoglobin complex determination increases the clinical specificity and sensitivity.

Indications

- Occult blood in stool
- Crohn´s disease; Ulcerative Colitis
- Suspicion of colon carcinoma
- Polyps in the colorectum

3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity for cat. no.	
			K 7837D	K 7837D.20
K 7837D	PLATE	Microtiter plate, pre-coated	12 x 8 wells	20 x 12 x 8 wells
K 0001.C.100	WASHBUF	Wash buffer concentrate, 10x	2 x 100 ml	40 x 100 ml
K 7837D	CONJ	Conjugate, (mouse anti-human Hb, peroxidase-labelled), ready-to-use	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 7837D	CAL	Calibrator, lyophilised (see specification for concentration)	2 x 1 vial	25 x 1 vial
K 7837D	HC	High control, lyophilised (see specification for range)	2 x 1 vial	25 x 1 vial

Cat. No.	Label	Kit components	Quantity for cat. no.	
			K 7837D	K 7837D.20
K 7837D	LC	Low control, lyophilised (see specification for range)	2 x 1 vial	25 x 1 vial
K 7837D	SAMPLEBUF	Sample dilution buffer, ready-to-use	2 x 15 ml	3 x 100 ml
K 0002.15	SUB	Substrate (tetramethylbenzidine), ready-to-use	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 0003.15	STOP	Stop solution, ready-to-use	1 x 15 ml	20 x 15 ml
K 6999.C.100	IDK Extract®	Extraction buffer concentrate <i>IDK Extract® 2.5x</i>	1 x 100 ml	-

For reorders of single components, use the catalogue number followed by the label as product number.

4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Ultrapure water*
- Calibrated precision pipettors and 10–1000 µl single-use tips
- Foil to cover the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- Multi-channel pipets or repeater pipets
- Centrifuge, 3000 g
- Vortex
- Standard single-use laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader (required filters see chapter 7)

* Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

5. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- To run the assay more than once, ensure that reagents are stored at the conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each run.** The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a volume less than **100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.
- **Preparation of the wash buffer:** The **wash buffer concentrate (WASHBUF)** has to be diluted with ultrapure water **1:10** before use (100 ml WASHBUF + 900 ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at room temperature or in a water bath at 37°C. The **WASHBUF** can be used until the expiry date stated on the label when stored at **2–8°C**. **Wash buffer** (1:10 diluted WASHBUF) can be stored in a closed flask at **2–8°C for 1 month**.
- **Preparation of the extraction buffer:** The **extraction buffer concentrate IDK Extract®** has to be diluted with ultrapure water **1:2.5** before use (100 ml *IDK Extract®* + 150 ml ultrapure water), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the concentrate. Before dilution, the crystals have to be redissolved at 37°C in a water bath. The *IDK Extract®* can be used until the expiry date stated on the label when stored at **2–8°C**. Extraction buffer (1:2.5 diluted *IDK Extract®*) can be stored in a closed flask at **2–8°C for four months**.
- The **lyophilised calibrator (CAL)** and **controls (HC and LC)** are stable at **2–8°C** until the expiry date stated on the label. Before use, the CAL, HC and LC have to be reconstituted with **500 µl of ultrapure water** and mixed by gentle inversion to ensure complete reconstitution. Allow the vial content to dissolve for 10 minutes and then mix thoroughly. **Calibrator and controls** (reconstituted CAL, HC and LC) **can be stored at 2–8°C for 4 weeks**.
- **Please dispense 50 µl of sample dilution buffer (SAMPLEBUF) as BLANK into the respective well.**
- All other test reagents are ready-to-use. Test reagents can be used until the expiry date (see label) when stored at **2–8°C**.

6. STORAGE AND PREPARATION OF SAMPLES

Extraction of the stool samples

Extraction buffer (1:2.5 diluted *IDK Extract*®) is used as a sample extraction buffer. We recommend the following sample preparation:

Stool Sample Application System (SAS) (Cat. No.: K 6998SAS)

Stool sample tube – Instructions for use

Please note that the dilution factor of the final stool suspension depends on the amount of stool sample used and the volume of the buffer.

SAS with 1.5 ml sample extraction buffer:

Applied amount of stool:	15 mg
Buffer Volume:	1.5 ml
Dilution Factor:	1:100

Please follow the instructions for the preparation of stool samples using the SAS as follows:

- a) The raw stool sample has to be thawed. For particularly heterogeneous samples we recommend a mechanical homogenisation using an applicator, inoculation loop or similar device.
- b) Fill the **empty stool sample tube** with **1.5 ml sample extraction buffer** (1:2.5 diluted *IDK Extract*®) before using it with the sample. **Important:** Allow the sample extraction buffer to reach room temperature.
- c) Unscrew the tube (yellow part of cap) to open. Insert the yellow dipstick into the sample. The lower part of the dipstick has notches which need to be covered completely with stool after inserting it into the sample. Place dipstick back into the tube. When putting the stick back into the tube, excess material will be stripped off, leaving 15 mg of sample to be diluted. Screw tightly to close the tube.
- d) Vortex the tube well until no stool sample remains in the notches. **Important:** Please make sure that you have a maximally homogenous suspension after shaking. Especially with more solid samples, soaking the sample in the tube with sample extraction buffer for ~ 10 minutes improves the result.
- e) Allow sample to stand for ~10 minutes until sediment has settled. Floating material like shells of grains can be neglected.

- f) Carefully unscrew the complete cap of the tube including the blue ring plus the dipstick. Discard cap and dipstick. Make sure that the sediment will not be dispersed again.

The sample suspension is now ready for use.

The sample can also be used in a pipetting automat. Place the sample in the sample rack according to instrument instructions.

Sample stability and storage

Due to the degradation of hemoglobin/haptoglobin at room temperature, which can amount to 50% per day, **raw stool** samples should be shipped frozen. If shipment either at -20°C or cooled is not possible, the samples can be mailed overnight, but this will reduce the sensitivity. Raw stool can be stored at -20°C for 1 month.

Stool extract is stable at room temperature (15–30°C), at 2–8°C as well as at -20°C for seven days. Avoid more than three freeze-thaw cycles.

7. ASSAY PROCEDURE

Principle of the test

This ELISA is designed for the quantitative determination of hemoglobin/haptoglobin complex in stool. The hemoglobin/haptoglobin complex in the sample is bound to anti-haptoglobin antibodies (in excess), which are immobilised on the surface of the microtiter wells. To remove all unbound substances, a washing step is carried out. In a second incubation step an anti-hemoglobin peroxidase-labelled antibody is added. After another washing step, to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate, tetramethylbenzidine (TMB). An acidic solution is then added to stop the reaction. The colour converts from blue to yellow. The intensity of the yellow colour is directly proportional to the concentration of the complex in the sample. The concentration of Hemoglobin/haptoglobin complex can be quantified by referring the optical density of the calibrator to a lot-dependent master calibration curve.

Test procedure

Bring all **reagents and samples to room temperature** (15–30°C) and mix well.

Mark the positions of calibrator/controls/blank/samples on a protocol sheet.

Take as many microtiter strips as needed from kit. Store unused strips together with the desiccant bag in the closed aluminium packaging at 2–8°C. Strips are stable until expiry date stated on the label.

For automated ELISA processors, the given protocol may need to be adjusted according to the specific features of the respective automated platform. For further details please contact your supplier or Immundiagnostik AG.

We recommend to carry out the tests in duplicate.

1.	Before use , wash the wells 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
2.	Add 50 µl sample dilution buffer (SAMPLEBUF) into each well.
3.	Add each 50 µl calibrator/controls/blank/diluted samples into the respective wells.
4.	Cover the strips and incubate for 1 hour at room temperature (15–30°C).
5.	Discard the content of each well and wash 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
6.	Add 100 µl conjugate (CONJ) into each well.
7.	Cover the strips and incubate for 1 hour at room temperature (15–30°C).
8.	Discard the content of each well and wash 5 times with 250 µl wash buffer . After the final washing step, remove residual wash buffer by firmly tapping the plate on absorbent paper.
9.	Add 100 µl substrate (SUB) into each well.
10.	Incubate for 10–20 min* at room temperature (15–30°C) in the dark .
11.	Add 100 µl stop solution (STOP) into each well and mix well.
12.	Determine absorption immediately with an ELISA reader at 450 nm against 620 nm (or 690 nm) as a reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the range of the photometer, absorption must be measured immediately at 405 nm against 620 nm as a reference.

* The intensity of the colour change is temperature sensitive. We recommend observing the colour change and stopping the reaction upon good differentiation.

8. RESULTS

For result evaluation, please use a four parametric logit-log model based on the standard curve of the respective kit lot and the Calibrator value (CAL). All essential information on the standard curve is provided on the QC data sheet of the respective product lot.

The calibration curve can be expressed either by the concentration of each standard with its corresponding optical density or by the four parameters A,B,C and D. In both cases the optical density of the calibrator (CAL) is essential. Depending on your evaluation software program, either the one or the other kind of data described above should be entered.

Caution: Please make sure that all parameters and values are transferred accurately into your software as minor deviations can cause severe errors during evaluation.

The plausibility of the duplicate values should be examined before the automatic evaluation of the results. If this option is not available with the program used, the duplicate values should be evaluated manually.

Stool

Since the sample dilution is already considered in the calibration curve, the dilution factor is 1.

In case **another dilution factor** has been used, multiply the obtained result by the dilution factor used.

9. LIMITATIONS

Samples with concentrations above the measurement range (see definition below) can be further diluted and re-assayed. Please consider this higher dilution when calculating the results.

Samples with concentrations lower than the measurement range (see definition below) cannot be clearly quantified.

The upper limit of the measurement range can be calculated as:

highest concentration of the standard curve × sample dilution factor to be used

The lower limit of the measurement range can be calculated as:

LoQ × sample dilution factor to be used

LoQ see chapter "Performance Characteristics".

10. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik AG recommends the use of external controls for internal quality control, if possible.

Control samples should be analysed with each run. Results, generated from the analysis of control samples, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid if within the same assay one or more values of the quality control sample are outside the acceptable limits.

Reference range

Hemoglobin/haptoglobin complex (stool)*: **< 2 µg/ml $\hat{=}$ < 2 µg/g**
(1 g stool $\hat{=}$ 1 ml)

* H.G. Bischoff et al., 1990. Fecal Occult Blood: A Sensitive and Specific Method for Detection by Immunological Determination of Human Albumin and Hemoglobin. *Ärztl. Lab.*, **36**, pp. 101–112.

We recommend each laboratory to establish its own reference range.

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Accuracy – Precision

Repeatability (Intra-Assay); n = 42

The repeatability was assessed with 2 stool samples under **constant** parameters (same operator, instrument, day and kit lot).

Sample	Mean value [µg/g]	CV [%]
1	8.31	3.9
2	3.88	2.5

Reproducibility (Inter-Assay); n = 30

The reproducibility was assessed with 2 control samples under **varying** parameters (different operators, instruments, days and kit lots).

Sample	Mean value [µg/g]	CV [%]
1	1.16	4.5
2	4.20	2.7

Accuracy – Trueness

The trueness states the closeness of the agreement between the result of a measurement and the true value of the measurand. Therefore, hb-hp-complex-spikes with known concentrations were added to 2 different stool samples.

Sample	Spike [µg/g]	Obtained [µg/g]	Expected [µg/g]	Recovery [%]
0.414	9.55	9.93	10.26	103.36
	5.30	5.70	6.62	116.17
	2.70	3.11	3.72	119.63
	1.20	1.61	1.87	115.86
0.922	9.55	10.40	8.40	80.75
	5.30	6.19	5.39	87.10
	2.70	3.61	3.74	103.80
	1.20	2.12	2.03	95.90

Linearity

The linearity states the ability of a method to provide results proportional to the concentration of analyte in the test sample within a given range. This was assessed according to CLSI guideline EP06-A by serial dilution of 2 different stool samples.

For hb-hp-complex in stool, the method has been demonstrated to be linear from 1.09 to 24.86 µg/g, showing a non-linear behaviour of less than ±20 % in this interval.

Sample	Dilution	Expected [µg/g]	Obtained [µg/g]	Recovery [%]
A	undiluted	24.86	24.86	100.00
	1:2	12.43	12.91	103.87
	1:4	6.21	7.10	114.25
	1:8	3.11	3.64	117.05
	1:16	1.55	1.82	117.09
B	undiluted	8.69	8.69	100.00
	1:2	4.34	4.28	101.40
	1:4	2.17	2.45	88.73
	1:8	1.09	1.27	85.58

Analytical sensitivity

The following values have been estimated based on the concentrations of the standard without considering possibly used sample dilution factors

Limit of blank, LoB	0.033 µg/g
Limit of detection, LoD	0.158 µg/g
Limit of quantitation, LoQ	0.248 µg/g

The evaluation was performed according to the CLSI guideline EP-17-A2. The specified accuracy goal for the LoQ was 20 % CV.

Analytical specificity

The specificity of the antibody was tested by measuring the cross-reactivity against 5 compounds with structural similarity to hb-hp-complex. There was no cross-reactivity observed.

Substance tested	Concentration added	Concentration obtained [µg/g]	Conclusion
Pankreatic Amylase	28 000 mU/l	0.000	< LoB
MPO	100 ng/ml	0.016	< LoB
Lysozyme	500 ng/ml	0.006	< LoB
Chymotrypsin	1 000 ng/ml	0.011	< LoB
slgA	600 ng/ml	0.008	< LoB

12. PRECAUTIONS

- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Kit reagents contain sodium azide or ProClin as bactericides. Sodium azide or ProClin are hazardous to health and the environment. Substrates for enzymatic colour reactions may also cause skin and/or respiratory irritation. Any contact with the substances must be avoided. Further safety information can be found in the safety data sheet, which is available from Immundiagnostik AG on request.

- The 10x Wash buffer concentrate (WASHBUF) contains surfactants which may cause severe eye irritation in case of eye contact.

Warning: Causes serious eye irritation. **IF IN EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. If eye irritation persists: get medical Advice/attention.

- The stop solution consists of diluted sulphuric acid, a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be wiped up immediately with copious quantities of water. Do not breath vapour and avoid inhalation.

13. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay. Furthermore we recommend not assembling wells of different microtiter plates for analysis, even if they are of the same batch.
- Control samples should be analysed with each run.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated on kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- Do not mix plugs and caps from different reagents.
- The assay should always be performed according to the enclosed manual.

14. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- *IDK®* and *IDK Extract®* are trademarks of Immundiagnostik AG.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the

test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from incorrect use.

- Warranty claims and complaints regarding deficiencies must be logged within 14 days after receipt of the product. The product should be sent to Immundiagnostik AG along with a written complaint.

15. REFERENCES













General literature

1. Lüthgens, K. et al., 1998. Hemoglobin-Haptoglobin-Complex: A Highly Sensitive Assay for the Detection of Fecal Occult Blood. *Clinical laboratory*, **44**, pp.543–551.
2. Thomas, L., 1998. Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik **5th ed.**, Frankfurt/Main: *TH-Books Verlagsgesellschaft*.
3. John, M. et al., 1994. Nachweis von Albumin im Stuhl zur Erkennung okkultur Blutungen : Vergleich zweier immunologischer Tests . Radiale Immundiffusion vs BM-Test Colon Albumin. *Klinisches Labor*, **40**, pp.77–81.

Literature using the IDK® Hb/Hp complex ELISA

4. Chalkias, A. et al., 2011. Patients with colorectal cancer are characterized by increased concentration of fecal hb-hp complex, myeloperoxidase, and secretory IgA. *American journal of clinical oncology*, **34**(6), pp.561–6.

Used symbols:

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Attention		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		Irritant