



Manual del Usuario



TM-CA 125 ELISA

IVD

REF EIA-5072

 96

 Fabricante:



DRG Instruments GmbH, Germany

Division of DRG International, Inc

Frauenbergstr. 18, D-35039 Marburg

Telefon: +49 (0)6421-17000 Fax: +49-(0)6421-1700 50

Internet: www.drg-diagnostics.de

E-mail: drg@drg-diagnostics.de

Distribuido por:



Contents / Inhaltsverzeichnis / Contenuti / Contenido /

1 INTRODUCCION

1.1 Uso Previsto

El Marcador Tumoral **DRG TM-CA 125** es un inmunoensayo enzimático cuantitativo de diagnóstico in vitro para la medición de CA 125 en suero y plasma.

1.2 Resumen y Explicación

El TM-CA 125 ELISA es una prueba para la detección de determinantes reactivos OC 125 glicoproteínas de alto peso molecular heterogéneo (200 - 1,000 kDa) en suero. Esta glicoproteína fue originalmente definida por el anticuerpo monoclonal OC 125 establecido por Bast y col. (1). Los determinantes reactivos OC 125 pueden encontrarse en un alto porcentaje en tumores de ovario de epitelio no mucinoso y se encuentran en el suero de mujeres que tienen tales tumores.

Los valores de CA 125 se incrementan en la mayoría de pacientes con cáncer epitelial de ovario activo, incluidos estos con estado I de la enfermedad (2). Valores elevados de CA 125 también se encuentran en 1-2% de individuos sanos y también pueden estar elevados en otras enfermedades como carcinoma de ovario, incluyendo trastornos benignos y malignos (3,4).

En mujeres con carcinoma de ovario epitelial primario que habían sido sometidas a terapia de primera línea seguida por procedimientos diagnósticos de segunda opinión, un valor de la prueba de CA 125 mayor que o igual a 35 U/mL puede ser indicativo de la presencia de tumor residual. CA125 con niveles por encima de 12 U/mL al final del tratamiento primario es un predictor independiente de supervivencia global (SG) y de supervivencia libre de progresión (PFS) (5,6,7).

Un valor de CA 125 por debajo de 35 U/mL no indica la ausencia de cáncer de ovario residual debido a que los pacientes con evidencia histopatológica de carcinoma de ovario pueden tener valores de CA 125 dentro del rango de individuos sanos.

Se recomienda que DRG TM-CA 125 ELISA debe ser usado por o bajo la orden de un médico capacitado y con la experiencia y el manejo de un ginecólogo oncólogo.

2 PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El kit DRG TM-CA 125 es un ensayo de fase sólida inmunosorbente ligado a enzima (ELISA) basado en el principio de sándwich.

Los pozos de la microplaca son cubiertos con un anticuerpo monoclonal [mouse] dirigido hacia un sitio antigénico único de la molécula de CA 125. Una alícuota de muestra del paciente que contiene CA 125 endógeno se incuba en el micropozo recubierto con enzima conjugada, la cual es un anti-anticuerpo monoclonal CA 125 conjugado con peroxidasa de rábano. Después de la incubación, el conjugado no unido se lava.

La cantidad de peroxidasa unida es proporcional a la concentración de CA 125 en la muestra.

Después de agregar la solución sustrato, la intensidad de color desarrollada es proporcional a la concentración de CA 125 en la muestra del paciente.

3 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Este kit es para uso diagnóstico in vitro solamente. Para uso profesional únicamente.
2. Todos los reactivos de éste kit que contienen suero o plasma humano han sido probados y confirmados negativos para HIV I/II, HBsAg y HCV por procedimientos aprobados por FDA. Todos los reactivos, sin embargo, deben ser tratados como potencial riesgo biológico en uso y para la disposición.
3. Antes de iniciar la prueba, lea las instrucciones completa y cuidadosamente. Use la versión válida del inserto del kit proporcionado con el kit. Asegúrese de que todo sea entendido.
4. La microplaca contiene tiras que se pueden romper. Los pozos sin usar deben ser almacenados de 2 °C a 8 °C en la bolsa de aluminio sellada en la bandeja proporcionada.
5. El pipeteo de las muestras y los reactivos se debe hacer lo más rápidamente posible y en la misma secuencia para cada paso.
6. Use recipientes desechables para servir los reactivos. Esto aplica especialmente para los recipientes del sustrato. Al usar un recipiente para el sustrato que ha sido previamente usado para el conjugado puede colorear la solución. No vertir de nuevo los reactivos en los frascos ya que pueden contaminarse.
7. Mezcle muy bien el contenido de la microplacas para asegurar buenos resultados. No reutilice las microplacas.
8. No deje secar los pozos durante el ensayo; adicione los reactivos inmediatamente después de completar los pasos de lavado.

9. Permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (21-26°C) antes de iniciar la prueba. La temperatura podría afectar las lecturas de absorbancia del ensayo. Sin embargo, los valores para las muestras del paciente no se afectarán.
10. Nunca pipetee con la boca y evite el contacto de los reactivos y las muestras con la piel y las membranas mucosas.
11. No fume, coma, beba, ni se maquille en áreas donde las muestras o los reactivos del kit son manipulados.
12. Use guantes de látex desechables cuando manipule muestras y reactivos. La contaminación microbiana de los reactivos o de las muestras puede dar falsos resultados.
13. El manejo debe hacerse en concordancia con los procedimientos definidos por una guía apropiada nacional de riesgo biológico o la regulación nacional vigente.
14. No use reactivos después de la fecha de vencimiento como se muestra en las etiquetas del kit.
15. Todos los volúmenes indicados tienen que ser realizados de acuerdo al protocolo. Se obtendrán solamente resultados óptimos de la prueba cuando se usan pipetas y lectores de microplacas calibrados.
16. No mezcle o use componentes de kits de diferentes números de lotes. Se recomienda no intercambiar pocillos de diferentes platos inclusive del mismo lote. Los kits pudieron ser enviados o almacenados bajo diferentes condiciones y las características de unión de los platos pueden resultar un poco diferentes.
17. Evite contacto con la solución de parada ya que contiene 0.5 M H₂SO₄. Este puede causar irritación y quemaduras en la piel.
18. Algunos reactivos pueden contener Proclin 300, BND y/o MIT como preservantes. En caso de contacto con ojos o piel, lave inmediatamente con agua.
19. El substrato TMB tiene un efecto irritante en la piel y las mucosas. En caso de posible contacto, lave los ojos con abundante volumen de agua y la piel con jabón y abundante agua. Lave los objetos contaminados antes de usarlos nuevamente. Si se inhala, lleve a la persona a tomar aire.
20. Los productos químicos y reactivos preparados o usados deben ser tratados como desechos peligrosos de acuerdo con la regulación nacional de riesgo biológico.
21. Para información sobre sustancias peligrosas incluidas en el kit por favor remítase a la hoja de seguridad del producto. La hoja de seguridad de éste producto está disponible solicitándolo directamente a DRG.

4 REACTIVOS

4.1 Reactivos provistos

1. **Micro placa tituladora**, 12x8 (tiras separables) tiras, 96 pozos; Pocillos cubiertos con anticuerpo anti-CA 125 (monoclonal).
2. **Estandar Zero**, 1 vial, 3 mL, listo para usar; Contiene preservante libre de mercurio.
3. **Estandar (Estandar 1-5)**, 5 viales, 0.5 mL, listos para usar; Concentraciones: 25 – 75 – 150 – 300 – 600 U/mL Contiene preservante libre de mercurio.
4. **Control Bajo & Alto**, 2 viales, 0.5 mL cada uno, listo para usar; Para valores y rangos del control por favor refiérase a la etiqueta o a la hoja de control de calidad. Contiene preservante libre de mercurio.
5. **Enzima conjugada**, 1 vial, 7 mL, listo para usar, Conjugado anticuerpo anti-CA 125 (monoclonal) peroxidasa de rábano; Contiene preservante libre de mercurio
6. **Solución Substrato**, 1 vial, 14 mL, listo para usar, Tetramethylbenzidina (TMB).
7. **Solución de Parada**, 1 vial, 14 mL, listo para usar, contiene 0.5M H₂SO₄, Evite el contacto con la solución de parada. Esta puede causar irritación y quemaduras en la piel.
8. **Solución de Lavado**, 1 vial, 30 mL (40X concentrado), ver "Preparación de Reactivos".

Note: El estandar zero adicional para diluir las muestras está disponible de acuerdo a solicitud.

4.2 Materiales requeridos pero no provistos

- Un lector de microplacas calibrado (450 ± 10 nm) (Por ejemplo el Lector de microplacas de DRG).
- Micropipetas de precisión calibradas de volumen variable.
- Papel absorbente
- Agua destilada o desionizada.
- Cronómetro
- Papel para graficar o software para análisis de datos.

4.3 Condiciones de Almacenamiento

Cuando el kit es almacenado entre 2 °C a 8 °C sin abrir, la reactividad permanecerá hasta la fecha de expiración indicada. No use los reactivos después de ésta fecha.

Los reactivos abiertos deben ser almacenados entre 2 °C a 8 °C. Los pocillos microtituladores deben ser almacenados entre 2 °C a 8 °C. Una vez la bolsa de aluminio ha sido abierta se debe tener cuidado de cerrarla herméticamente de nuevo.

Los kits abiertos mantienen su actividad por 8 semanas si se almacena como se indica arriba.

4.4 Preparación de Reactivos

Lleve todos los reactivos y el número requerido de tiras a temperatura ambiente antes del uso.

Solución de Lavado

Adicione agua desionizada a la solución de lavado concentrada 40X .

Diluya 30 mL de solución de lavado concentrada con 1170 mL de agua desionizada para un volumen final 1200 mL.

La solución de lavado diluida ese estable por 2 semanas a temperatura ambiente.

4.5 Eliminación del kit

La eliminación del kit debe hacerse de acuerdo a la regulación nacional. Información especial para éste producto es suministrada en la Hoja de Seguridad.

4.6 Kits de Ensayo dañados

En caso de algún daño severo del kit o sus componentes, DRG debe ser informado por escrito, a más tardar, una semana después de recibido el kit. Componentes individuales severamente dañados no deben ser usados para realizar una prueba. Estos deben ser almacenados hasta que se encuentre una solución definitiva. Después de esto, deben desecharse de acuerdo a la regulación oficial.

5 OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Suero y Plasma (EDTA, Heparina, Citrato) pueden usarse en ésta prueba..

No use muestras hemolisadas, ictericas o lipémicas.

Tenga en cuenta: Las muestras que contienen ácido sódico no deben ser usadas en éste ensayo.

5.1 Obtención de la Muestra

Suero:

Obtenga la muestra por venipuntura (Por ejemplo: Sarstedt Monovette # 02.1388.001), deje coagular y separe el suero por centrifugación a temperatura ambiente. No centrifugue antes de completar la coagulación. Los pacientes que reciben terapia anticoagulante pueden incrementar el tiempo de coagulación.

Plasma:

La sangre total debe ser obtenida en tubos que contengan anticoagulante y centrifugarse inmediatamente después de tomada.

(Por ejemplo para plasma EDTA Sarstedt Monovette – tapa roja - # 02.166.001;

Para plasma Heparinizado Sarstedt Monovette – tapa naranja - # 02.165.001;

Para plasma Citratado Sarstedt Monovette – tapa verde - # 02.167.001.)

5.2 Almacenamiento y preparación de la muestra

Las muestras deben taparse y almacenarse hasta dos días de 2 °C a 8 °C antes de la prueba.

Las muestras almacenadas por un tiempo mayor (Hasta 12 meses) deben congelarse solamente una vez a -20°C antes de la prueba. Las muestras descongeladas deben invertirse varias veces antes de la prueba.

5.3 Dilución de la muestra

Si en un ensayo inicial, se encuentra una muestra con mayor concentración que el estandar más alto, la muestra debe ser diluida con el estandar zero y reanalizada como se describe en el procedimiento del ensayo.

Para el cálculo de las concentraciones éste factor de dilución debe ser tenido en cuenta

Ejemplo:

a) dilución 1:10: 10 µL muestra + 90 µL estandar zero (Mezclar bien)

b) dilución 1:100: 10 µL dilución a) 1:10 + 90 µL estandar zero (Mezclar bien).

6 PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

6.1 Observaciones Generales

- Todos los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente antes del uso. Todos los reactivos deben ser mezclados sin formar burbujas.
- Una vez la prueba se ha iniciado, todos los pasos deben completarse sin interrupción.
- Use puntas plásticas desechables para pipeta para cada estandar, control o muestras para evitar contaminación cruzada.
- La absorbancia está en función del tiempo de incubación y la temperatura. Antes de iniciar la prueba, se recomienda que todos los reactivos estén listos, tapas removidas, todos los pozos necesarios asegurados en el soporte, etc. Esto asegurará tiempos iguales para cada paso de pipeteo sin interrupción.
- Como regla general la reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y la temperatura.

6.2 Procedimiento de la prueba

Cada corrida debe incluir una curva estandar.

1. Asegure el número deseado de pozos en el soporte.
2. Dispense **50 µL** de cada **Estandar, Control y muestras** con punta nueva desechable en los pozos apropiados.
3. Dispense **50 µL Enzyme Conjugado** en cada pozo.
Mezcle bien por 10 segundos. Es muy importante mezclar completamente en éste paso.
4. Incube por **60 minutos** a temperatura ambiente.
5. Agitar enérgicamente el contenido de los pozos.
Lave los pozos **3 veces** con Solución de Lavado diluida (300 µL por pozo). Golpee los pozos con fuerza sobre papel absorbente para remover las gotas residuales.

Nota importante:

La sensibilidad y precisión de la prueba es marcadamente influenciada por un correcto procedimiento de lavado!

6. Adicione **100 µL** de **Solución de Substrato** a cada pozo.
7. Incube por **15 minutos** a temperatura ambiente.
8. Detenga la reacción enzimática adicionando **100 µL** de **Solución de Parada** a cada pozo.
9. Determine la absorbancia (DO) de cada pozo a **450 ± 10 nm** con un lector de microplatos.
Se recomienda que los pozos se lean dentro de **10 minutos** después de adicionar la solución de parada.

6.3 Cálculo de Resultados

1. Calcule el promedio de los valores de absorbancia para cada serie de estándares, controles y muestras de pacientes.
2. Método manual: Use papel para graficar, realice una curva estandar trazando la absorbancia media obtenida de cada estandar contra su concentración, con el valor de absorbancia sobre el eje vertical (Y) y la concentración sobre el eje horizontal (X).
3. Use el valor de la absorbancia media de cada muestra para determinar la concentración correspondiente a partir de la curva estandar.
4. Método automatizado: Los resultados se han calculado automáticamente usando una curva fija 4 PL (4 Parameter Logistics). 4 Parameter Logistics es el método de referencia. Otras funciones de reducción de los datos pueden dar resultados ligeramente diferentes.
5. La concentración de las muestras puede leerse directamente desde ésta curva estándar. Muestras con concentraciones más altas que la del estandar más alto deben ser diluidas o reportadas como > 600 U/mL. Para el Cálculo de la concentración éste factor de dilución debe ser tenido en cuenta.

6.3.1 Ejemplo de una típica curva estandar

Los siguientes datos son solo para demostración y no deben ser usados en reemplazo de los datos generados en la prueba.

Estandar	Unidades Opticas (450 nm)
Estandar 0 (0 U/mL)	0.02
Estandar 1 (25 U/mL)	0.16
Estandar 2 (75 U/mL)	0.41
Estandar 3 (150 U/mL)	0.75
Estandar 4 (300 U/mL)	1.27
Estandar 5 (600 U/mL)	1.76

7 VALORES NORMALES ESPERADOS

Se recomienda que cada laboratorio determine sus propios valores normales y anormales.

En un estudio realizado con adultos sanos de apariencia normal, utilizando el TM CA-125 de DRG se observaron los siguientes resultados:

Población	Valid N	Promedio (U/mL)	Media (U/mL)	5 th Percentile (U/mL)	95 th Percentile (U/mL)
Hombres	35	6.47	8.90	2.53	18.80
Mujeres	35	3.51	5.30	1.67	13.09

Los estudios clínicos recomiendan un punto de corte entre 35 a 65 U/mL para el diagnóstico y seguimiento del cáncer de ovario (8-9).

Sólo los resultados no deben ser la única razón para una decisión terapéutica. Los resultados deben estar correlacionados con otras observaciones clínicas y pruebas diagnósticas.

8 CONTROL DE CALIDAD

Las buenas prácticas de laboratorio requieren que los controles sean corridos con cada curva de calibración. Un número estadísticamente significativo de controles debe ser analizado para establecer el valor medio y aceptar los rangos para establecer un desempeño adecuado.

Se recomienda usar muestras control de acuerdo a las regulaciones estatales. Se recomienda el uso de muestras control para asegurar día a día la validez de los resultados. Use controles de nivel normal y patológico.

Los controles y el resultado correspondiente del laboratorio de Control de Calidad se indican en el certificado de control de calidad incluido en el kit. Los valores y rangos indicados en la hoja de control de calidad siempre se refieren al lote del kit actual y deben ser usados para comparar directamente los resultados.

También se recomienda hacer uso de los programas nacionales o internacionales de evaluación de la calidad con el fin de asegurar la exactitud de los resultados.

Emplee métodos estadísticos apropiados para analizar los valores del control y las tendencias. Si los resultados de la prueba no se ajustan a los rangos aceptables establecidos para el material de control, los resultados de los pacientes deben considerarse inválidos.

En éste caso, por favor revise las siguientes áreas técnicas: Dispositivos de pipeteo y temporización, fotómetro, fechas de expiración de reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, aspiración y métodos de lavado.

Después de revisar los puntos mencionados arriba sin encontrar ningún error, contacte a su proveedor de DRG directamente.

9 CARACTERISTICAS DE DESEMPEÑO

9.1 Rango dinámico del ensayo

El rango de la prueba está entre 0.25 U/mL – 600 U/mL.

9.2 Especificidad de anticuerpos (Reactividad cruzada)

Las siguientes sustancias fueron probadas para reactividad cruzada (en %) de la prueba:

CA 19-9 (0%),
CEA (0%),
CA 72-4 (0%).

9.3 Sensibilidad

La sensibilidad analítica de DRG ELISA fue calculada adicionando 2 desviaciones estandar a la media de 20 análisis replicados del Estandar Zero y fue de 0.25 U/mL.

9.4 Reproducibilidad

9.4.1 Intra Ensayo

La variabilidad dentro del ensayo se muestra abajo:

Muestra	n	Media (U/mL)	CV (%)
1	20	16.9	5.9
2	20	26.7	5.8
3	20	135.8	4.5

9.4.2 Inter Ensayo

La variabilidad inter ensayo se muestra abajo:

Muestra	n	Media (U/mL)	CV (%)
1	40	19.5	13.8
2	40	33.8	10.6
3	40	82.7	6.5

9.5 Recuperación

A las muestras se les adicionó soluciones de CA 125 con concentración conocida en relación 1:1.

El % de recuperación se ha calculado multiplicando la relación de las mediciones y los valores esperados por 100 (valores esperados = (CA 125 endógeno + CA 125 adicionado) / 2; debido a una dilución del suero 1:2 con el material adicionado).

		Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
Concentración [U/mL]		19.0	97.1	191.1
Promedio de recuperación		89.4	94.4	94.9
Rango de recuperación [%]	desde	89.1	91.4	93.4
	hasta	89.7	99.8	96.3

9.6 Linearidad

		Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentración [U/mL]		17.7	29.5	103.0
Promedio de recuperación		106.9	101.7	90.6
Rango de recuperación [%]	desde	95.8	90.7	88.7
	hasta	113.3	108.6	94.8

10 LIMITACIONES DE USO

Resultados seguros y reproducibles se obtendrán cuando el procedimiento de la prueba se realiza con un completo entendimiento de las instrucciones de uso y conforme a las buenas prácticas de laboratorio. Cualquier manipulación inadecuada de las muestras o modificación de ésta prueba puede influir en el resultado.

10.1 Sustancias interferentes

Hemoglobina (Hasta 4 mg/mL), Bilirrubina (hasta 0.5 mg/mL) y Triglicéridos (hasta 30 mg/mL) no influyen en los resultados de la prueba.

La prueba contiene reactivos para minimizar la interferencia de HAMA y anticuerpos heterófilos. Sin embargo, títulos extremadamente altos de HAMA o de anticuerpos heterófilos pueden interferir con los resultados de ésta prueba.

10.2 Drogas Interferentes

Hasta hoy no se conocen sustancias (drogas) que interfieran en la medición de CA 125 en una muestra.

10.3 Alta dosis de efecto gancho

No se observó efecto gancho en ésta prueba hasta 19,200 U/mL de CA 125.

11 ASPECTOS LEGALES

11.1 Confiabilidad de los Resultados

La prueba debe ser realizada exactamente de acuerdo a las instrucciones de uso del fabricante. Por otra parte, el usuario deberá seguir estrictamente las normas de GLP (Buenas Prácticas de Laboratorio- sigla en inglés) o aplicar otros estándares y/o leyes nacionales. Es especialmente relevante el uso de reactivos control. Es muy importante siempre incluir dentro del procedimiento de la prueba un número suficiente de controles para validar la exactitud y precisión de la prueba.

Los resultados de la prueba son válidos únicamente si los controles están dentro de los rangos específicos y si todos los demás parámetros están también dentro de las especificaciones dadas de la prueba. En caso de alguna duda o inquietud por favor contacte a DRG.

11.2 Consecuencias terapéuticas

Las consecuencias terapéuticas nunca se deben basar en los resultados de laboratorio únicamente aún si todos los resultados están de acuerdo con los puntos mencionados en 11.1. Cualquier resultado de laboratorio es solo una parte del cuadro clínico total de un paciente.

Solamente en casos donde los resultados de laboratorio están de acuerdo con el cuadro clínico completo del paciente, se deben generar las medidas terapéuticas. El resultado de la prueba por sí mismo nunca debe ser sólo la determinante para derivar una conducta terapéutica.

11.3 Responsabilidad

Cualquier modificación del kit de prueba y/o cambio o mezcla de cualquier componente de diferentes lotes de un kit de prueba a otro, podría afectar negativamente los resultados previstos y la validez de la prueba en general. Esta modificación y/o cambio invalida cualquier reclamo para un reemplazo.

Las reclamaciones presentadas debido a una mala interpretación del cliente de los resultados de laboratorio tratadas en el punto 11.2. también son inválidas. De todos modos, en el caso de cualquier reclamación, la responsabilidad del fabricante no excede el valor del kit. Cualquier daño causado al kit durante el transporte no está sujeto a la responsabilidad del fabricante.

12 REFERENCIAS / LITERATURA

1. Bast R.C. et al.: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. *J. Clin. Invest.* 1981; 68:1331-1337.
2. Duffy M.J.: Role of tumor markers in patients with solid cancers: A critical review. *Eur. J. Intern. Med.* 2007; 18(3):175-184.
3. Ataseven H. et al.: Cancer antigen 125 levels in inflammatory bowel diseases. *J. Clin. Lab. Anal.* 2009; 23(4): 244-248.
4. Powell J.L. et al.: Preoperative serum CA-125 levels in treating endometrial cancer. *J. Reprod. Med.* 2005; 50(8): 585-589.
5. Juretzka M.M. et al.: CA125 level as a predictor of progression-free survival and overall survival in ovarian cancer patients with surgically defined disease status prior to the initiation of intraperitoneal consolidation therapy. *Gynecol. Oncol.* 2007; 104(1): 176-180.
6. Micha J.P. et al: Clinical utility of CA-125 for maintenance therapy in the treatment of advanced stage ovarian carcinoma. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2009; 19(2): 239-241.
7. Kang W.D., Choi H.S., Kim S.M.: Value of serum CA125 levels in patients with high-risk, early stage epithelial ovarian cancer. *Gyneco. Oncol.* 2010; 116(1): 57-60.
8. Klug TL, et al.: Monoclonal antibody immunoradiometric assay for an antigenic determinant (CA 125) associated with human epithelial ovarian carcinomas. *Cancer Res.* 1984; 44(3):1048-53.
9. Kaesemann H. et al.: Monoclonal antibodies in the diagnosis and follow-up of ovarian cancer. CA 125 as a tumor marker. A cooperative study of the Gynecologic Tumor Marker Group (GTMG). *Klin. Wochenschr.* 1986, 64(17):781-5.

1 EINLEITUNG

Der **DRG TM-CA 125** wird zur quantitativen Bestimmung von CA 125 in Serum und Plasma eingesetzt.

Nur für In-vitro Diagnostik.

2 TESTPRINZIP

Der DRG TM-CA 125 ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay, der auf der Sandwichtechnik basiert. Die Wells der Mikrotiterplatten sind mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet, der gegen eine definierte Antikörper-Bindungsstelle des CA 125 -Moleküls gerichtet ist.

Die Proben werden in die beschichteten Wells gegeben und mit einem Enzymkonjugat inkubiert. Das Konjugat enthält einen monoklonalen anti- CA 125 –Antikörper, der mit Meerrettichperoxidase konjugiert ist. Es wird ein Sandwichkomplex gebildet.

Das nicht gebundene Konjugat wird durch Waschen der Wells entfernt. Anschließend wird die Substratlösung zugegeben, und die Farbentwicklung nach einer definierten Zeit gestoppt. Die Intensität der gebildeten Farbe ist proportional der CA 125 -Konzentration in der Probe. Die Extinktion wird bei 450 nm mit einem Mikrotiterplattenleser gemessen.

3 VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Materialsicherheitsdatenblatt.
- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 0.5 M H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Materialsicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma DRG Instruments GmbH erhältlich. Die Materialsicherheitsdatenblätter entsprechen den Verordnungen der EU-Richtlinie 91/155 EC.

4 BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

1. **Microtiterwells**. 96 Wells. 12x8 Wells (einzeln brechbar);
Mit anti- CA 125-Antikörper (monoklonal) beschichtet.
2. **Zero Standard** (Nullstandard) 1 Fläschchen. 3 mL. gebrauchsfertig;
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. **Standard (Standard 1-5)**. 5 Fläschchen. je 0.5 mL. gebrauchsfertig;
Konzentrationen: 25 – 75 – 150 – 300 – 600 U/mL
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. **Control Low & High** (Kontrolle). 2 Fläschchen. je 0.5 mL; gebrauchsfertig
Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem QC-Datenblatt.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
5. **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat). 1 Fläschchen. 7 mL. gebrauchsfertig;
Anti-CA 125 -Antikörper mit Meerrettichperoxidase konjugiert.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
6. **Substrate Solution** (Substratlösung). 1 Fläschchen. 14 mL. gebrauchsfertig;
Substratlösung TMB.
7. **Stop Solution** (Stopplösung). 1 Fläschchen. 14 mL. gebrauchsfertig;
enthält 0.5 M H₂SO₄.
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
8. **Wash Solution** (Waschlösung). 1 Fläschchen. 30 mL. **40X** konzentriert;
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

Anmerkung: Zusätzlicher *Zero Standard* zur Probenverdünnung ist auf Anfrage erhältlich.

4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät mit 450 ± 10 nm Filter). (z.B. das DRG Instruments Mikrotiterplattenlesegerät)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Saugfähiges Papier
- Aqua dest.

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.
Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.
Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.
Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits zwei Monate ihre Reaktivität.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht werden.

Wash Solution

Die 40-fach konzentrierte *Wash Solution* (30 mL) mit 1170 mL destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 mL verdünnen.

Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für 2 Wochen stabil.

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Material Sicherheitsdatenblatt. Kapitel 13.

4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma DRG in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten sollten nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen gelagert werden, bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5 PROBENVORBEREITUNG

Serum oder Plasma (EDTA-, Heparin- oder Zitratplasma) können in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

Lipämische, ikterische und/oder stark hämolysierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Achtung: Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

5.1 Probenentnahme

Serum:

Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette # 02.1388.001), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma:

Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrcchen, die ein Antikoagulantien enthalten. Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

(z.B.: für EDTA-Plasma Sarstedt Monovette – roter Deckel - # 02.166.001;
für Heparinplasma Sarstedt Monovette – oranger Deckel - # 02.165.001;
für Zitratplasma Sarstedt Monovette – grüner Deckel - # 02.167.001.)

5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 2 Tage bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Für eine längere Aufbewahrung (bis zu 12 Monaten) sollten die Proben eingefroren bei –20°C bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

5.3 Probenverdünnung

Wenn in einem ersten Testdurchlauf bei einer Probe eine Konzentration höher als der höchste Standard gefunden wird, kann diese Probe mit *Zero Standard* weiter verdünnt und nochmals bestimmt werden. Die Verdünnung muss jedoch bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

Beispiel:

- Verdünnung 1:10: 10 µL Serum + 90 µL *Zero Standard* gründlich mischen)
- Verdünnung 1:100: 10 µL Verdünnung a) 1:10 + 90 µL *Zero Standard* (gründlich mischen).

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1. Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 50 µL Standard, Control und Probe mit neuen Plastikspitzen** in die entsprechenden Wells geben.
3. **50 µL Enzyme Conjugate** in jedes Well geben.
Für 10 Sekunden gut schütteln. Es ist sehr wichtig, in diesem Schritt eine komplette Durchmischung zu erreichen.
4. **60 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln. Wells **3-mal** mit verdünnter *Wash Solution* (300 µL) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrilles!
6. **100 µL Substrate Solution** in jedes Well geben.
7. **15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
8. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **100 µL Stop Solution** in jedes Well abstoppen.
9. Die Optische Dichte bei **450±10 nm** mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von **10 Minuten** nach Zugabe der **Stop Solution** bestimmen.

6.3 Ergebnisermittlung

1. Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Controls und Patientenproben bestimmen.
2. Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren Optischen Dichte jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird.
3. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Automatische Methode: Die in der Arbeitsanleitung ermittelten Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4 Parameter Gleichung (4PL, 4 Parameter Logistics, 4 Parameter Rodbard) bestimmt. Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
5. Die Konzentration der Proben kann direkt von der Standardkurve abgelesen werden. Proben, die eine höhere Konzentration als die des höchsten Standards enthalten, müssen verdünnt werden. Dieser Verdünnungsfaktor muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

6.3.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem DRG ELISA gezeigt. Diese Werte sollten **nicht** zur Berechnung von Patientendaten verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450 nm)
Standard 0 (0 U/mL)	0,02
Standard 1 (25 U/mL)	0,16
Standard 2 (75 U/mL)	0,41
Standard 3 (150 U/mL)	0,75
Standard 4 (300 U/mL)	1,27
Standard 5 (600 U/mL)	1,76

7 ERWARTETE WERTE

Es wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen normalen und abnormalen Werte ermittelt.

In einer Studie wurden die Proben von gesunden Erwachsenen untersucht. Dabei ergaben sich mit dem DRG TM-CA 125 folgende Werte:

Population	N	Mittelwert (U/mL)	Median (U/mL)	5 ^{te} Perzentile (U/mL)	95 ^{ste} Perzentile (U/mL)
Männer	35	6,47	8,90	2,53	18,80
Frauen	35	3,51	5,30	1,67	13,09

Klinische Studien empfehlen einen Grenzwertbereich (cut-off) von 35-65 U/mL zur Diagnose des Ovarialkarzinoms und zur Beurteilung des Therapieverlaufs (8-9).

8 QUALITÄTS-KONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Zertifikat, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungs-Programmen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode. Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DRG in Verbindung.

9 ASSAY CHARACTERISTIKA

9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 0,25 – 600 U/mL.

9.2 Spezifität der Antikörper (Kreuzreaktivität)

Die Daten entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

9.3 Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert plus der zweifachen Standardabweichung des *Zero Standard* (n = 20), beträgt 0,25 U/mL.

Die Daten zu:

9.4 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.5 Wiederfindung

9.6 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

10 GRENZEN DES TESTS

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikationen dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

10.1 Interferenzen

Hämoglobin (bis zu 4 mg/mL). Bilirubin (bis zu 0,5 mg/mL) und Triglyceride (bis zu 30 mg/mL) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

Der Test enthält Reagenzien, um Interferenzen mit HAMA oder heterophilen Antikörpern zu minimieren. Trotzdem ist es möglich, dass ein sehr hoher Titer von HAMA oder heterophilen Antikörpern das Testergebnis beeinflusst.

10.2 Beeinflussung durch Medikamente

Uns sind bislang keine Stoffe (Medikamente) bekannt geworden, deren Einnahme die Messung des CA 125-Gehaltes der Probe beeinflussen würde.

10.3 High-Dose-Hook Effekt

Ein Hook Effekt tritt bei Proben mit bis zu 19.200 U/mL CA 125 nicht auf.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit der Firma DRG in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1. genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden. Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung











Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2. erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

12 REFERENZEN / LITERATUR

Angaben zu den Referenzen entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Arbeitsanleitung.

SYMBOLS USED WITH DRG ELISAS

Symbol	English	Deutsch	Français	Español	Italiano
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea
	Consult instructions for use	Gebrauchsanweisung beachten	Consulter les instructions d'utilisation	Consulte las Instrucciones	Consultare le istruzioni per l'uso
	In vitro diagnostic device	In-vitro-Diagnostikum	Usage Diagnostic in vitro	Para uso Diagnóstico in vitro	Per uso Diagnostica in vitro
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Seulement dans le cadre de recherches	Sólo para uso en investigación	Solo a scopo di ricerca
	Catalogue number	Katalog-Nr.	Référence	Número de catálogo	No. di Cat.
	Lot. No. / Batch code	Chargen-Nr.	No. de lot	Número de lote	Lotto no
	Contains sufficient for <n> tests/	Ausreichend für "n" Ansätze	Contenu suffisant pour "n" tests	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenuto sufficiente per "n" saggi
	Storage Temperature	Lagerungstemperatur	Température de conservation	Temperatura de conservación	Temperatura di conservazione
	Expiration Date	Mindesthaltbarkeitsdatum	Date limite d'utilisation	Fecha de caducidad	Data di scadenza
	Legal Manufacturer	Hersteller	Fabricant	Fabricante	Fabbricante
<i>Distributed by</i>	Distributor	Vertreiber	Distributeur	Distribuidor	Distributore
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenu	Contenido	Contenuto
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Numéro	Volumen/Número	Volume/Quantità
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Plaques de micro-titration	Placas multipocillo	Micropozzetti
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisérum	Antisero	Antisiero
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Conjugué enzymatique	Conjugado enzimático	Tracciante enzimatico
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complexe enzymatique	Complex enzimático	Complesso enzimatico
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Solution substrat	Solución de sustrato	Soluzione di substrato
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Solution d'arrêt	Solución de parada	Soluzione d'arresto
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Zero Standard	Estándar cero	Standard zero
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Contrôle	Control	Controllo
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampon d'essai	Tampón de ensayo	Tampone del test
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Solution de lavage	Solución de lavado	Soluzione di lavaggio
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl	1 N HCl	
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungsmedium	Solution pour dilution de l'échantillon	Solución para dilución de la muestra	Diluyente dei campioni
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungsmedium	Solution pour dilution du conjugué	Solución para dilución del conjugado	Diluyente del tracciante