

VIROTECH HSV IgG LINE Immunoblot

(HSV IgG LINE-16)

Nº de pedido: WE130G16

(HSV IgG LINE-32)

Nº de pedido: WE130G32

EXCLUSIVAMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

**Virotech Diagnostics GmbH
Waldstrasse 23 A2
63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0
Fax.: +49(0)6074-23698-900
www.goldstandarddiagnostics.com**



Índice

1. Finalidad	3
2. Principio de la prueba	3
3. Contenido	3
3.1 Kit para 16 determinaciones	3
3.2 Kit para 32 determinaciones	3
4. Conservación y caducidad del kit y de los reactivos	4
5. Medidas de precaución y advertencias	4
6. Material adicional necesario (no suministrado)	4
7. Material de muestra	5
8. Realización de la prueba	5
8.1 Preparación de las muestras	5
8.2 Preparación de los reactivos.....	5
8.3 Realización de la prueba de inmunotransferencia.....	5
8.4 Empleo de procesadores de inmunotransferencia	6
9. Valoración del ensayo	6
9.1 Evaluación de las muestras de paciente.....	7
9.2 Empleo del control de corte	7
9.3 Significado de los antígenos	7
9.4 Criterios de evaluación.....	7
9.5 Limitaciones del ensayo	8
10. Bibliografía	8
11. Esquema de la realización de la prueba	9

1. Finalidad

Kit de ensayo por inmunotransferencia de línea para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG específicos contra los virus del herpes simplex VHS-1 y VHS-2 en suero humano. El uso de las glucoproteínas G1 (gG1) y G2 (gG2) específicas para cada subtipo permite diferenciar de forma diagnósticamente significativa entre VHS1 y VHS2.

2. Principio de la prueba

Las proteínas del antígeno del organismo patógeno se transfieren sobre una membrana de nitrocelulosa mediante un procedimiento de pulverización especial. A continuación, la membrana de nitrocelulosa se corta en tiras individuales.

La incubación de las tiras de nitrocelulosa portadoras de antígeno con muestras de suero/plasma humano permite la identificación de los anticuerpos específicos existentes. Estos anticuerpos forman complejos inmunitarios con los antígenos fijados en las tiras de prueba. Una vez eliminados los anticuerpos no ligados mediante pasos de lavado, las tiras de nitrocelulosa se incuban con anticuerpos IgG antihumanos conjugados con fosfatasa alcalina. Después de eliminar los anticuerpos conjugados no ligados mediante un paso de lavado adicional tiene lugar la visualización de los complejos antígeno-anticuerpo (de los anticuerpos ligados) mediante la adición de un sustrato incoloro que, al reaccionar con las enzimas, genera bandas azul-violeta ("bandas de antígeno"). La reacción enzima-sustrato se interrumpe lavando las tiras de nitrocelulosa con agua destilada o desionizada. En función de los patrones de bandas observados puede determinarse la presencia de anticuerpos IgG específicos.

3. Contenido

3.1 Kit para 16 determinaciones

- | | | |
|---|-----------|----------|
| 1. Tiras de prueba de IgG nitrocelulosa con antígenos pulverizados sobre las mismas, reforzadas con lámina de plástico, clasificadas en cuadernillos, listas para usar | 1x | 16 tiras |
| 2. Control de nivel de corte IgG , suero humano, prediluido | 1x | 1,0 ml |
| 3. Tampón de dilución/lavado , pH 7,3 (conc. 10x), con conservante y Tris | 1x | 50 ml |
| 4. Conjugado IgG (concentración 100x) antihumano, (caprino)-fosfatasa alcalina, con conservante | 1x | 0,7 ml |
| 5. Sustrato (BCIP/NBT), listo para usar | 1x | 57 ml |
| 6. Hoja de protocolo de valoración , para protocolizar y archivar los resultados | 1x | 1 unidad |

3.2 Kit para 32 determinaciones

- | | | |
|---|-----------|----------|
| 1. Tiras de prueba de IgG nitrocelulosa con antígenos pulverizados sobre las mismas, reforzadas con lámina de plástico, clasificadas en cuadernillos, listas para usar | 2x | 16 tiras |
| 2. Control de nivel de corte IgG , suero humano, prediluido | 1x | 1,0 ml |
| 3. Tampón de dilución/lavado , pH 7,3 (conc. 10x), con conservante y Tris | 2x | 50 ml |
| 4. Conjugado IgG (concentración 100x) antihumano, (caprino)-fosfatasa alcalina, con conservante | 1x | 0,7 ml |
| 5. Sustrato (BCIP/NBT), listo para usar | 1x | 57 ml |
| 6. Hoja de protocolo de valoración , para protocolizar y archivar los resultados | 1x | 1 unidad |

Bajo demanda puede suministrarse adicionalmente:

IgG- Control positivo, suero humano, prediluido, 0,5 ml.

Las bandas positivas > bandas Cut off se indican en el certificado suministrado.

(Art. no.: IgG: WE130P60)

IgG- Control negativo, suero humano, prediluido, 0,5 ml.

El control negativo no muestra ninguna banda o bien ninguna banda relevante para la evaluación > banda Cut off.

(Art. no.: IgG: WE130N60)

4. Conservación y caducidad del kit y de los reactivos

Conserve el kit de ensayo a 2-8°C. El plazo de caducidad de cada componente figura en la correspondiente etiqueta; el plazo de caducidad del kit puede consultarse en el certificado de control de calidad.

1. No congele los reactivos ni los exponga a temperaturas elevadas.
2. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
3. Evite conservar los reactivos en un lugar expuesto a luz intensa.
4. La solución de sustrato BCIP/NBT es fotosensible y debe conservarse en un lugar oscuro.
5. **Tiras de prueba de nitrocelulosa:** Utilice las tiras inmediatamente después de sacarlas de la bolsa. Vuelva a cerrar bien la bolsa con las tiras que no necesite y consérvela a 2-8°C. Para archivar los resultados, es imprescindible proteger las tiras de prueba de nitrocelulosa contra la incidencia directa de la luz solar, para evitar una descoloración de las bandas.

Material	Estado	Almacenamiento	Estabilidad
Muestras de análisis	sin diluir	de +2 hasta +8°C	1 semana
Tiras de análisis	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (almacenamiento en la bolsa suministrada)	3 meses
Controles	tras la apertura	de +2 hasta +8°C	3 meses
Conjugado	tras la apertura	de +2 hasta +8°C	3 meses
	diluido	de +2 hasta +8°C	aprox. 6h
Sustrato	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (protegido contra la luz)	3 meses
Solución de lavado	tras la apertura	de +2 hasta +8°C (protegida contra la luz)	3 meses
	dilución final (lista para el uso)	de +2 hasta +8°C	4 semanas
	dilución final (lista para el uso)	o a temperatura ambiente	2 semanas

5. Medidas de precaución y advertencias

1. Como sueros de control sólo deben utilizarse sueros que hayan dado resultado negativo en las pruebas de anticuerpos VIH1, anticuerpos VIH2, anticuerpos VHC y antígeno de superficie de la hepatitis B. En cualquier caso, todos los sueros de control, muestras, muestras diluidas, conjugados y tiras de prueba de nitrocelulosa deben considerarse como material potencialmente infeccioso y manipularse con las correspondientes precauciones. Deberán seguirse las correspondientes directrices para trabajos de laboratorio.
2. Al realizar la inmunotransferencia deben utilizarse guantes desechables y pinzas de plástico.
3. Los materiales utilizados deberán eliminarse según la normativa de eliminación de residuos de cada país.
4. Las cubetas de incubación han sido diseñadas por el fabricante exclusivamente para un único uso. Si las cubetas de incubación se emplean más de una vez, la responsabilidad recae sobre el usuario. En caso de que se decida emplear las cubetas más de una vez, recomendamos que después de su uso se desinfecten durante varias horas en una solución de hipoclorito sódico al 1%, se limpien y se enjuaguen a fondo con agua corriente y posteriormente con agua destilada o desionizada.

6. Material adicional necesario (no suministrado)

1. Cubeta de incubación (disponible con el nº de pedido WE300.08)
2. Agitador (vertical, no centrífugo)
3. Frasco lavador para interrumpir la reacción
4. Pipeta o lavador manual
5. Micropipetas de 5 µl - 1500 µl
6. Puntas de pipeta
7. Tubos de ensayo, volumen 2-20 ml
8. Pinzas de plástico
9. Agua destilada o desionizada

10. Papel de filtro

7. Material de muestra

Como material de análisis se pueden utilizar suero o plasma (sin importar el tipo de anticoagulantes), aunque en el folleto sólo se mencione el suero.

8. Realización de la prueba

Para obtener resultados correctos es imprescindible respetar exactamente las instrucciones de trabajo de VIROTECH Diagnostics.

8.1 Preparación de las muestras

1. Para cada muestra de paciente son necesarios 15 µl de suero o de plasma.
2. Las muestras de sangre se deben extraer por punción venosa bajo condiciones asépticas. Tras la coagulación completa se debe separar el suero (no procede para el plasma). Para un almacenamiento más prolongado, los sueros deben congelarse a -20°C.
3. Debe evitarse la congelación y descongelación repetidas de los sueros.
4. Los sueros térmicamente inactivados o que presenten lipemia, hemólisis o contaminación microbiana pueden llevar a resultados incorrectos, por lo que no deben utilizarse.
5. No utilice muestras de suero turbias (especialmente después de la descongelación); en caso necesario, centrifúguelas (5 min a 1000 x g), pipetee el sobrenadante transparente y utilícelo para la prueba.

8.2 Preparación de los reactivos

1. Para la adaptación a la rutina de laboratorio se pueden utilizar todos los LINEs y EcoBlots en un ciclo de prueba (con tiempos de incubación idénticos y parámetros y lotes de componentes similares). Los controles Cut off se realizan de forma específica para los parámetros y lotes.
2. Antes de diluir todos los reactivos de ensayo, el correspondiente reactivo concentrado debe llevarse a temperatura ambiente. Sólo debe utilizarse agua destilada o desionizada de alta calidad y a temperatura ambiente.
3. Antes de iniciar el ensayo, las diluciones deben mezclarse bien.
4. **Tampón de dilución/lavado**
El tampón de dilución/lavado se suministra en una concentración de 10x. Diluya el concentrado de tampón de dilución/lavado al 1:10 con agua destilada o desionizada (10ml/50ml/100ml de concentrado + 90ml/450ml/900ml a. dest./desionizada) y mézclelo bien.
Tanto el tampón de dilución/de lavado concentrado como el diluido pueden presentar una coloración amarilla. Esta coloración amarilla no afecta a la estabilidad del tampón de dilución/de lavado ni a la funcionalidad y capacidad diagnóstica de la preparación de ensayo.
5. **Conjugado IgG**
Diluya el conjugado (1+100) con tampón para dilución/lavado ya diluido y mezcle bien. Por cada muestra de suero se necesitan 1,5 ml de solución de conjugado lista para usar. Consulte la tabla de dilución del conjugado (apartado "Esquema de la realización de la prueba").
6. **Solución de sustrato**
La solución de sustrato se suministra lista para usar.

8.3 Realización de la prueba de inmunotransferencia

Atención: Para la realización y evaluación correctas de la prueba HSV LINE debe utilizarse en todas las pruebas un control del nivel de corte específico para los parámetros y el lote correspondientes.

1. La prueba se realiza a temperatura ambiente.
2. Por cada prueba, coloque 1 tira en la ranura de una cubeta de incubación limpia. En la medida de lo posible, la tira sólo debe sujetarse por el extremo superior marcado.

3. Pipetee en cada tira 1,5 ml de **tampón de dilución/lavado** listo para usar y colóquela en el agitador. Asegúrese de que las tiras de prueba de nitrocelulosa estén uniformemente cubiertas de líquido: no debe secarse en ningún momento del ensayo.
4. Las tiras de prueba de nitrocelulosa reforzadas están totalmente humedecidas al cabo de un minuto, y pueden incubarse hacia arriba, hacia abajo o de lado.
5. Agregar cada vez **15µl de suero/plasma de paciente** ó **100µl del control Cut off / positivo / negativo**, en lo posible en el extremo superior y marcado de la banda Incube el suero de paciente y el control durante **30 minutos** en el agitador. Durante el pipeteado y el posterior vertido debe prestarse atención a evitar contaminaciones cruzadas entre las distintas muestras de paciente.
6. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo cuidadosamente. El verter el líquido, las tiras de prueba de nitrocelulosa permanecen adheridas al suelo de las ranuras. Seque el líquido residual con papel absorbente.
7. **Lave** las tiras: incúbelas **3 veces durante 5 minutos** en el agitador con 1,5 ml de tampón de dilución/lavado listo para usar por cada vez. Aspire o vierta siempre el tampón de lavado en su totalidad. Antes de realizar el último paso de lavado, prepare la cantidad necesaria de conjugado diluido fresco (véase tabla).
8. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo (véase el punto 6).
9. Pipetee 1,5 ml del **conjugado diluido** preparado en cada ranura de incubación e incube durante **30 minutos** en el agitador.
10. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo.
11. **Lave** las tiras: incúbelas **3 veces durante 5 minutos** en el agitador con 1,5 ml de tampón de dilución/lavado listo para usar por cada vez. Aspire o vierta siempre el tampón de lavado en su totalidad. A continuación, lávelas **1 vez durante 1 minuto con agua destilada/desionizada**.
12. Aspire por completo el líquido de las ranuras o viértalo (véase el punto 6).
13. Pipetee 1,5 ml de **solución de sustrato** lista para usar en cada ranura y revele las tiras durante **10 ± 3 minutos** en el agitador.
14. **Interrumpa** el revelado del color vertiendo la solución de sustrato. A continuación, lave **3 veces** las tiras sin incubación intermedia con 1,5 ml de **agua destilada/desionizada** cada vez.
15. Vierta el agua destilada/desionizada y seque las tiras sobre un papel absorbente limpio. La coloración de fondo que puede observarse en las tiras de prueba de nitrocelulosa húmedas desaparece por completo al secarse. En comparación con las tiras de prueba de nitrocelulosa normales, las tiras de prueba de nitrocelulosa reforzadas tardan algo más en secarse.
16. Utilice el protocolo de valoración adjunto para la evaluación. Las indicaciones que figuran en las bandas altamente específicas en la hoja de protocolo facilitan la evaluación de las muestras de paciente.

Véase esquema de la realización de la prueba en la última página

8.4 Empleo de procesadores de inmunotransferencia

Para el procesamiento automatizado de los Blot y de las LINE se han validado los equipos siguientes: Apollo y Profiblot. Por principio son adecuados todos los equipos automáticos para Blot de tipo usual en el comercio.

9. Valoración del ensayo

Para la valoración segura, cada tira LINE está equipada con dos controles:

1. **Control de suero** (= serum control):

La marca de incubación con suero debajo de la línea de marca (= markline) sólo aparece después de incubar la tira con suero de paciente.

2. **Control de conjugado** (= conjugate control):

La tira LINE está dotada de una banda de control de conjugado que aparece después de la incubación con el correspondiente conjugado.

La prueba realizada es válida si, una vez revelada, en la tira de prueba de nitrocelulosa aparecen claramente tanto la banda de control de suero como la de control interno de conjugado.

La posición de las bandas de control de suero y de conjugado se indican en la hoja de protocolo.

9.1 Evaluación de las muestras de paciente

La posición y denominación de las bandas reactivas se indican en la hoja de protocolo.

Bandas IgG: VHS-1, gG1, gG2

9.2 Empleo del control de corte

Banda Cut off para la valoración de las bandas de antígeno total HSV, gG1 y gG2: banda gG2 de control Cut off

Evaluación de las intensidades de banda:

7. Banda gG1 y gG2:
- | | |
|--|-------------------|
| Bandas < banda gG2 del control de corte: | negativo (-) |
| Bandas = banda gG2 del control de corte: | valor límite (vl) |
| Bandas > banda gG2 del control de corte: | positivo (+) |
8. Antígeno total VHS:
- | | |
|--|--------------|
| Bandas < banda gG2 del control Cut off : | negativo (-) |
| Banda ≥ banda gG2 del control Cut off : | positivo (+) |

9.3 Significado de los antígenos

Antígeno / denominación	Descripción de los antígenos	Especificidad de los anticuerpos del LINE
Antígeno total VHS	Antígeno total VHS1- y VHS2 nativo	específicos
gG1	Glucoproteína recombinante dek sustena de baculovirus, específica para cada especie	Altamente específicos para VHS1
gG2	Glucoproteína específica para cada especie, purificada por cromatografía de afinidad	Altamente específicos para VHS2

9.4 Criterios de evaluación

La interpretación de resultados serológicos debe tener siempre en cuenta el cuadro clínico, los datos epidemiológicos y otros resultados analíticos existentes.

Evaluación recomendada

Si solo se identifica la banda de antígeno total del VSH, solo la banda gG1 o solo la banda gG2, el resultado debe considerarse inverosímil y debe verificarse empleando otra metodología.

Evaluación de las bandas			Evaluación global	
Antígeno total VHS	gG1	gG2	HSV-1	HSV-2
-	-	-	negativo	negativo
Una única banda aislada			inverosímil	inverosímil
+	vl	-	valor límite	negativo
+	-	vl	negativo	valor límite
+	vl	vl	valor límite	valor límite

+	+	-	positivo	negativo
+	-	+	negativo	positivo
+	vl	+	valor límite	positivo
+	+	vl	positivo	valor límite
+	+	+	positivo	positivo

9.5 Limitaciones del ensayo

1. Un resultado negativo de la inmunotransferencia no permite descartar por completo la posibilidad de una infección por VHS1 o VHS2. La muestra puede haberse extraído antes de la aparición de anticuerpos, o el nivel de anticuerpos puede encontrarse por debajo del límite de detección del ensayo. En esos casos se recomienda una serología IgM-.
2. El tratamiento con aciclovir puede influir en la formación de anticuerpos (15).
3. La variabilidad genética de la proteína gG2 puede dar lugar a cepas de VHS2 que sean negativas respecto a gG2.
4. En casos poco frecuentes, los sueros de pacientes pueden presentar bandas "invertidas" (fondo oscuro, bandas blancas); si ocurre esto no es posible evaluar la prueba. En ese caso, el suero debe analizarse mediante otros métodos serológicos.

10. Bibliografía

1. Anzivino, E, D Fioriti, M Mischitelli, A Bellizzi, V Barucca, F Chiarini, V Pietropaolo. 2009. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention. *Virology* 6,40
2. Arvin, A, C Prober. 1995. Herpes Simplex Viruses. 876-883. In Murray, P, E Baron, M Pfaller, F Tenover, and R Tenover (eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. 6th Ed. ASM, Washington, D.C.
3. Bernstein, DI, LR Stanberry, CJ Harrison, JC Kappes, MG Myers. 1986. Antibody response, recurrence patterns and subsequent herpes simplex virus type 2 (HSV-2) re-infection following initial HSV-2 infection of guinea-pigs: effects of acyclovir. *J Gen Virol*. 67, 1601-1612
4. Brown ZA, Benedetti J, Ashley R, Burchett S, Selke S, Berry S, Vontver LA, Corey L.. 1991. Neonatal herpes simplex virus infection in relation to asymptomatic maternal infection at the time of labor. *N Engl J Med*. 324, 1247-1252
5. Brown, Z, S Sleke, J Zeh, J Kopelmann, A Maslow, R Ashley, D Watts, S Berry, M Herd, L Correy. 1997. The acquisition of herpes simplex virus during pregnancy. *N Engl J Med*. 337, 509-515
6. Bünzli, D, Wietlisbach V, Barazzoni F, Sahl R, Meylan PR. 2004. Seroepidemiology of Herpes Simplex virus type 1 and 2 in Western and Southern Switzerland in adults aged 25–74 in 1992–93 : a population-based study. *BMC Infect Dis*. 4. <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/4/10>
7. CDC. 1998. Guidelines for Treatment of Sexually Transmitted Diseases. *MMWR*. 47, 1-118
8. Eing, BR Lippelt L, Lorentzen EU, Hafezi W, Schlumberger W, Steinhagen K, Kühn JE. 2002. Evaluation of confirmatory strategies for detection of type-specific antibodies against herpes simplex virus type 2. *J Clin Microbiol*. 40, 407-413.
9. Prober, C, W Sullender, L Yasukawa, D Au, A Yaeger, A Arvin. 1987. Low risk if herpes simplex virus infections in neonates exposed to the virus at the time of vaginal delivery to mothers with recurrent herpes simplex virus infections. *N Engl J Med*. 316, 240-244
10. Rabenau HF, Buxbaum S, Preiser W, Weber B, Doerr HW. 2002. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and type 2 in the Frankfurt am Main area, Germany. *Med Microbiol Immunol*. 190, 153-160
11. Roizman, B, DM Knipe. 2001. Herpes Simplex Viruses and Their Replication. . In Fields, B, D Knipe, P Howley, et al. (eds.). *Fields Virology* 4th Ed. Lippincott-Raven, Philadelphia
12. Smith J, N Robinson. 2002. Age-specific prevalence of infection with herpes simplex : a global review. *J Inf Dis*. 186, 3-28
13. Tunbäck, P, Bergström T, Claesson BA, Carlsson RM, Löwhagen GB. 2007. Early acquisition of herpes simplex virus type 1 antibodies in children-A longitudinal serological study. *J Clin Vir*. 40, 26-30
14. Whitley, R. 2001. Herpes Simplex Viruses. In Fields, B, D Knipe, P Howley, et al. (eds.). *Fields Virology* 4th Ed. Lippincott-Raven, Philadelphia
15. Wutzler, P, Doerr HW, Färber I, Eichhorn U, Helbig B, Sauerbrei A, Brandstädt A, Rabenau HF. 2000. Seroprevalence of herpes simplex virus type 1 and type 2 in selected German populations - relevance for the incidence of genital herpes. *J Med Virol*. 61, 201-207

11. Esquema de la realización de la prueba

Resumen de la realización de la prueba:

Incubación de muestras	30 minutos	15 µl de suero/plasma del paciente/100 µl de control en cada caso en 1,5 ml de tampón de dilución/lavado
Lavado	3 x 5 minutos	con 1,5 ml de tampón para dilución/lavado en cada caso
Incubación de los conjugados	30 minutos	con 1,5 ml de dilución para el uso (1 + 100)
Lavado	3 x 5 minutos	con 1,5 ml de tampón para dilución/lavado en cada caso
	1 x 1 minuto	con agua destilada/desionizada
Incubación del sustrato	10 ± 3 minutos	con 1,5 ml de solución de sustrato en cada caso
Parada	3 x sin incubación intermedia	con 1,5 ml de agua destilada/desionizada en cada caso

Tabla para dilución de conjugado: (valores redondeados)

Número de tiras	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tampón de dilución/lavado	1,5ml	3,0ml	4,5ml	6,0ml	7,5ml	9,0ml	11,0ml	12,0ml	14,0ml	15,0ml
Conjugado concentrado	15µl	30µl	45µl	60µl	75µl	90µl	110µl	120µl	140µl	150µl
Volumen final	1,515ml	3,03ml	4,545ml	6,06ml	7,575ml	9,09ml	11,11ml	12,12ml	14,14ml	15,15ml

Número de tiras	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Tampón de dilución/lavado	17,0ml	18,0ml	20,0ml	21,0ml	23,0ml	24,0ml	26,0ml	27,0ml	29,0ml	30,0ml
Conjugado concentrado	170µl	180µl	200µl	210µl	230µl	240µl	260µl	270µl	290µl	300µl
Volumen final	17,17ml	18,18ml	20,2ml	21,21ml	23,23ml	24,24ml	26,26ml	27,27ml	29,29ml	30,3ml

Número de tiras	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Tampón de dilución/lavado	32,0ml	33,0ml	35,0ml	36,0ml	38,0ml	39,0ml	41,0ml	42,0ml	44,0ml	45,0ml
Conjugado concentrado	320µl	330µl	350µl	360µl	380µl	390µl	410µl	420µl	440µl	450µl
Volumen final	32,32ml	33,33ml	35,35ml	36,36ml	38,38ml	39,39ml	41,41ml	42,42ml	44,44ml	45,45ml

Número de tiras	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Tampón de dilución/lavado	47,0ml	48,0ml	50,0ml	51,0ml	53,0ml	54,0ml	56,0ml	57,0ml	59,0ml	60,0ml
Conjugado concentrado	470µl	480µl	500µl	510µl	530µl	540µl	560µl	570µl	590µl	600µl
Volumen final	47,47ml	48,48ml	50,5ml	51,51ml	53,53ml	54,54ml	56,56ml	57,57ml	59,59ml	60,6ml