

VIROTECH HSV IgG LINE Immunoblot

(HSV IgG LINE-16)

Objednací | .: WE130G16

(HSV IgG LINE-32)

Objednací | .: WE130G32

JEN K DIAGNOSTICE IN VITRO

VIROTECH Diagnostics GmbH

Löwenplatz 5

D- 65428 Rüsselsheim

Tel.: +49-6142-6909-0

Fax: +49-6142-966613

<http://www.virotechdiagnostics.com>



Freigabedatum: 18.10.2018

REV 19 / VIROTECH HSV IgG LINE Immunoblot CZ

Obsah

1. Účel použití	3
2. Princip testování	3
3. Obsah balení.....	3
3.1 Souprava k provedení 16 testů	3
3.2 Souprava k provedení 32 testů	3
4. Skladování a trvanlivost testovací soupravy a reagens	3
5. Preventivní opatření a varovné pokyny.....	4
6. Dodatečně potřebný materiál (není v rozsahu dodávky)	4
7. Zkušební materiál	4
8. Průběh testu	5
8.1 Příprava vzorků	5
8.2 Příprava reagens	5
8.3 Provedení testu Immunoblot	5
8.4 Použití procesoru immunoblot	6
9. Vyhodnocení testu	6
9.1 Vyhodnocení zkušebních vzorků pacienta	6
9.2 Použití Cut off zkoušky	6
9.3 Význam antigenů	6
9.4 Kritéria vyhodnocení	7
9.5 Meze testu	7
10. Literatura	7
11. Schéma průběhu testu	9

1. Účel použití

Testovací souprava LINE immunoblot ke kvalitativnímu prokázání specifických protilátek IgG proti Herpes simplex virus HSV-1 a HSV-2 v lidském séru. Použitím podtypových specifických glykoproteinů G1 (gG1) a G2 (gG2) je možné dležit diagnostické rozlišení HSV1 a HSV2.

2. Princip testování

Proteiny antigenu pTvoce jsou speciální rozprařovací metodou pšnáženy na nitrocelulózovou membránu. Nitrocelulózová membrána je pak rozšžána na jednotlivé proučky.

Incubace nitrocelulózových proučkT nesoucích antigen se vzorky lidského séra/plazmy umogřuje prokázat stávající specifické protilátky. Tyto protilátky tvoš imunokomplexy s antigeny fixovanými na testovacích proučkích. Po odstranění nevázaných protilátek promytím jsou jednotlivé nitrocelulózové proučky s alkalickou fosfatázou inkubovány konjugovanými anti-human protilátkami IgG. Poté, co byly nevázané konjugované protilátky odstraněny dalším promytím, následuje zviditelnění komplexT antigenT/protilátek (vázané protilátky) pšdním nezbarveného substrátu, který pš své enzymatické pšmiň vytváš modrofialové pásy (řAntigenové pásy). Enzymová/substrátová reakce je zastavena promytím nitrocelulózových proučkT destilovanou/deionizovanou vodou. V závislosti na sledovaném vzorovém pásku lze posoudit existenci specifických protilátek IgG.

3. Obsah balení

3.1 Souprava k provedení 16 testT

- | | | |
|---|----|------------|
| 1. Nitrocelulózové testovací proučky IgG s nastřkanými antigeny, zesílené fólií, tšdné v bloř ku, pšpravené k použití | 1x | 16 proučkT |
| 2. IgG Cut off zkouřka, lidské sérum, pšdem zšdný | 1x | 1,0 ml |
| 3. ř edicí roztok/promývací puřr, pH 7,3 (10x konc.), s konzervař ním prostšdkem a Tris | 1x | 50 ml |
| 4. Konjugát IgG (100x konc.)
Anti-human, (koř) alkalická fosfatáza, s konzervař ním prostšdkem | 1x | 0,7 ml |
| 5. Substrát (BCIP/NBT), pšpravený k použití | 1x | 57 ml |
| 6. Vyhodnocovací protokol k protokolování a archivování výsledkT | 1x | 1 ks. |

3.2 Souprava k provedení 32 testT

- | | | |
|---|----|------------|
| 1. Nitrocelulózové testovací proučky IgG s nastřkanými antigeny, zesílené fólií, tšdné v bloř ku, pšpravené k použití | 2x | 16 proučkT |
| 2. IgG Cut off zkouřka, lidské sérum, pšdem zšdný | 1x | 1,0 ml |
| 3. ř edicí roztok/promývací puřr, pH 7,3 (10x konc.), s konzervař ním prostšdkem a Tris | 2x | 50 ml |
| 4. Konjugát IgG (100x konc.)
Anti-human, (koř) alkalická fosfatáza, s konzervař ním prostšdkem | 1x | 0,7 ml |
| 5. Substrát (BCIP/NBT), pšpravený k použití | 1x | 57 ml |
| 6. Vyhodnocovací protokol k protokolování a archivování výsledkT | 1x | 1 ks. |

K dodání na vyřádání:

IgG- pozitivní kontrola, lidské sérum, pšdem zšdný, 0,5 ml.

Vyhodnocení pozitivní pruhy > pruhy Cut off mřžete zjistit z certifikátu, který je souř ástí dodávky.

(obj.-ř : IgG: WE130P60)

IgG- negativní kontrola, lidské sérum, pšdem zšdný, 0,5 ml.

Negativní kontrola nezobrazuje řádné pruhy, resp. řádné vyhodnocení relevantní pruhy > pruhy Cut off.

(obj.-ř : IgG: WE130N60)

4. Skladování a trvanlivost testovací soupravy a reagens

Testovací soupravu uchovávat pš teplotě 2-8°C. Trvanlivost jednotlivých komponent je zaznamenána na pšsluěné etiketě trvanlivost soupravy viz certifikát kontroly jakosti.

1. Jednotlivá reagens nezmrazovat a nevystavovat je vysokým teplotám.
2. Reagens po uplynutí data skončení trvanlivosti nepoužívat.
3. Zabránit skladování reagens před oslňujícím světlem.
4. Substrátový roztok BCIP/ NBT je světlocitlivý a musí být uchováván v temnotě.
5. **Nitrocelulóзовé testovací proučky:** Proučky po vyjmutí ze sáčku okamžitě použít. Sáček s nepotřebnými proučky zase pevně uzavřete a uchovávejte před teplotou 2-8°C. K archivaci výsledků by měly být nitrocelulóзовé testovací proučky bezpodmínečně chráněny před přímým slunečním světlem, aby bylo zabráněno vyblednutí pásků.

Materiál	Stav	Skladování	Stabilita
zkušební vzorky	nezfrozený	+2 až +8°C	1 týden
testovací proučky	po otevření	+2 až +8°C (skladování v souladu s dodaným sáčkem)	3 měsíce
kontroly	po otevření	+2 až +8°C	3 měsíce
konjugát	po otevření	+2 až +8°C	3 měsíce
	zrozený	+2 až +8°C	cca 6 hod
substrát	po otevření	+2 až +8°C (chráňte před světlem)	3 měsíce
prací roztok	po otevření	+2 až +8°C (chráňte před světlem)	3 měsíce
	po zrození (připravený k použití)	+2 až +8°C	4 týdny
	po zrození (připravený k použití)	nebo pokojová teplota	2 týdny

5. Preventivní opatření a varovné pokyny

1. Jako kontrolní séra jsou používána jen ta séra, která byla testována a jako HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK a hepatitis-B-surface-antigen shledána negativní. Přesto by měly být kontrolní séra, zkušební vzorky, zrozené zkušební vzorky, konjugáty a nitrocelulóзовé testovací proučky považovány za potenciálně infekční materiály a podle toho by se s nimi mělo i opatrně zacházet. Pro laboratorní práce platí příslušné směrnice.
2. Při provádění metody immunoblot je třeba nosit rukavice na jedno použití a používat plastovou pinzetu.
3. Použité materiály odstraňovat podle zemských směrnic.
4. Inkubační vaničky jsou výrobcem koncipovány pouze pro jedno použití. Vícenásobné použití těchto inkubačních vaniček je na zodpovědnost uživatele. Při event. vícenásobném použití doporučujeme inkubační vaničky po použití několik hodin dezinfikovat v 1% roztoku chlornanu sodného, potom vyčistit a důkladně vypláchnout vodou z vodovodu a destilovanou/demineralizovanou vodou.

6. Dodatečný potřebný materiál (není v rozsahu dodávky)

1. Inkubační vanička (v případě potřeby k dostání pod obj. č. WE300.08)
2. Těpačka (vertikální ne odstědivá)
3. Stiskací láhev k přerušení
4. Pipeta nebo ruční promývací přístroj
5. Mikropipety 5 µl - 1500 µl
6. Hroty pipet
7. Zkušební trubičky (troubky) obsah 2-20 ml
8. Plastová pinzeta
9. Destilovaná nebo deionizovaná voda
10. Filtrální papír

7. Zkušební materiál

Jako zkoumaný materiál lze použít sérum a plazmu (přitom není důležitý druh antikoagulantů), i když v tomto příbalovém letáku je zmíněno pouze sérum.

8. Průběh testu

Přesné dodržování pracovního postupu VIROTECH Diagnostics je předpokladem docílení správných výsledků.

8.1 Příprava vzorků

1. Na vzorek pacienta je zapotřebí 15 µl séra nebo plazmy.
2. Vzorky krve by měly být odebírány asepticky venepunkcí. Po úplné koagulaci je třeba sérum oddělit (u plazmy odpadá). K delšímu uchování musí být séra zmrazena při teplotě -20°C.
3. Zabránit opakovanému zmrazování a roztávání sér.
4. Séra, která jsou tepelně inaktivní, lipemická, hemolytická nebo mikrobiálně kontaminovaná, mohou vést ke zfalšovaným výsledkům a proto se nemají používat.
5. Nepoužívat zakalené vzorky séra (zejména pro rozmrazení), eventuálně je odstedit (5 min. při 1000 x g), pipetovat zakalení a použít v testu.

8.2 Příprava reagens

1. K adaptaci na laboratorní praxi lze použít všechna imidla LINE a EcoBlot v jednom testovacím cyklu se stejnými podmínkami inkubace a komponenty různých parametrů z různých řádů. Cut off kontroly se provádí podle parametrů a řádků.
2. Před nasazením všech testovacích reagensů zahřát příslušný koncentrát na teplotu prostředí. Používat jen destilovanou/deionizovanou vodu vysoké jakosti a zahřátou na teplotu prostředí.
3. Před zahájením testu dobře promíchat nasazené roztoky.

Ředící/promývací pufr

Ředící roztok/promývací pufr je k dispozici v 10ti násobné koncentraci. Ředící roztok/promývací pufr se ředí v poměru 1:10 destilovanou nebo deionizovanou vodou (10ml/50ml/100ml koncentrátu + 90ml/450ml/900ml A. dest./deioniz.), dobře promíchat.

Koncentrovaný i nasazený ředící/promývací pufr může vykazovat žluté zabarvení. Toto žluté zabarvení však nemá žádný vliv na trvanlivost a funkci ředícího/promývacího pufru ani na diagnostickou vypovídací schopnost prováděného testu.

Konjugát IgG

Konjugát 1 + 100 nasazte finálně zředěným zředěním / promývacím pufrům a dobře promíchejte. Na každý vzorek je zapotřebí 1,5 ml nasazeného roztoku konjugátu. Viz tabulku ke zředění konjugátu (bod: Schéma průběhu testu).

Substrátový roztok

Substrátový roztok se dodává připravený k použití.

8.3 Provedení testu Immunoblot

Pozor: Pro správné provedení a posouzení HSV LINE musí být při každém testu součástí provedena Cut off kontrola odpovídající parametrům a řádkům.

1. Test se provádí při teplotě prostředí.
2. Pro každý testovací vzorek položit vždy 1 proužek do glávků stejné inkubační vaničky. Proužek pokud možno brát jen za označený horní konec.
3. Vždy pipetovat 1,5 ml ředícího/promývací pufru připraveného k použití a postavit na těpálku. Dbát, aby nitrocelulózové testovací proužky byly stejným způsobem pokryty kapalinou, proužky nesmí být v žádné fázi prováděného testu suché.
4. Zesílené nitrocelulózové testovací proužky jsou během jedné minuty úplně navlhčeny a mohou být inkubovány v poloze na zádech, boku nebo na boku.
5. Na každých 15 µl séra/plazmy pacienta i 100 µl pozitivní / negativní kontroly Cut off pipetujte, pokud možno na horním, označeném konci proužku. Sérum pacienta a zkoušku inkubovat po dobu 30 minut na těpálku. Při pipetování a následném slévání dbát, aby nedošlo ke křížové kontaminaci jednotlivých zkušebních vzorků pacienta.
6. Kapalinu ze glávků úplně odsát, nebo opatrně slít. Po slití kapaliny zůstanou nitrocelulózové testovací proužky přilepené na dně glávků. Zbývající kapalinu odkapat na savý papír.
7. **Promývání** proužků: vždy s 1,5 ml ředícího/promývací pufru připraveného k použití inkubovat po dobu 3 x 5 minut na těpálku. Promývací pufr vždy úplně odsát nebo slít. Před provedením posledního promývacího kroku zhotovit z potřebného množství i první nasazený roztok konjugátu (viz tabulku).
8. Kapalinu ze glávků úplně odsát nebo slít (viz bod 6).

9. Vždy 1,5 ml vyrobeného **naředěného roztoku konjugátu** napipetovat do příslušných inkubačních glávek a po dobu **30 minut** inkubovat na teplotě 37 °C.
10. Kapalinu ze glávek úplně odsát nebo slít.
11. **Promývání** proužků: vždy s 1,5 ml šedivého/promývacího pufru připraveného k použití inkubovat po dobu **3 x 5 minut** na teplotě 37 °C. Promývací pufr vždy úplně odsát nebo slít. Poté **1 x 1 minutu** promývat **destilovanou/deionizovanou vodou**.
12. Kapalinu ze glávek úplně odsát nebo slít (viz bod 6).
13. Vždy 1,5 ml **substrátového roztoku** připraveného k použití napipetovat do glávek a po dobu **10 ± 3 minut** vyvolávat na teplotě 37 °C.
14. Barvotvorné vyvolávání **zastavit** slitím substrátového roztoku. Poté proužky bez meziinkubací doby **3 x** promýt vždy s 1,5 ml **destilované/deionizované vody**.
15. Slít destilovanou/deionizovanou vodu a proužky vysušit na čistém, savém papíru. Zbarvení pozadí, které mohlo být pozorováno u vlhkých nitrocelulózových testovacích proužků, u suchých proužků zcela zmizí. Zesílené nitrocelulózové proužky ve srovnání s běžnými nitrocelulózovými testovacími proužky potřebují o něco delší dobu k úplnému vyschnutí.
16. Pro vyhodnocení používejte připojený vyhodnocovací protokol. Popis jednotlivých proužků na protokolu a příměs na NC Vám usnadní vyhodnocení vzorků pacientů.

Schéma průběhu testu viz poslední stranu

8.4 Použití procesorů immunoblot

Pro automatické zpracování Blot a LINE jsou schváleny tyto přístroje: Apollo a Profiblot. V zásadě jsou vhodné všechny automaty Blot obvyklé na trhu.

9. Vyhodnocení testu

K bezpečnému vyhodnocení je každý proužek LINE vybaven dvěma kontrolami:

1. **Kontrola séra** (= serum control):

Jen po inkubaci se sérem pacienta se pod značkovací čarou (= markline) objeví pásy inkubace séra.

2. **Kontrola konjugátu** (= conjugate control):

Pásek LINE je vybaven kontrolním pásem konjugátu, který se zobrazí po inkubaci s odpovídajícím konjugátem.

Provedení testu je platné, pokud je na vyvolaných nitrocelulózových testovacích proužcích zřetelně znatelná jak kontrola séra tak i interní kontrola konjugátu.

Poloha kontrolního pásu séra a konjugátu je uvedena v protokolu.

9.1 Vyhodnocení zkušebních vzorků pacienta

Polohu a označení reakčních proužků zjistíte v protokolovacím listu.

pruhy IgG: HSV, gG1, gG2

9.2 Použití Cut off zkoušky

Pruh cut off k vyhodnocení proužků celkového antigenu HSV, gG1 a gG2: pruh gG2 kontroly cut off

Vyhodnocení intenzity pásků:

- | | | |
|--------------------------------|------------------------------------|---------------|
| 1. <u>Pásky gG1 a gG2:</u> | Pásky < pásky gG2 Cut off zkoušky: | Negativní (-) |
| | Pásky = pásky gG2 Cut off zkoušky: | Hraní ní (gw) |
| | Pásky > pásky gG2 Cut off zkoušky: | Pozitivní (+) |
| 2. <u>HSV-celkový antigen:</u> | Pruhy < pruh gG2 kontroly cut off: | negativní (-) |
| | Pruhy > pruh gG2 kontroly cut off: | pozitivní (+) |

9.3 Význam antigenů

Antigen / název	Popis antigenů	Zvláštnost protilátky v LINE
HSV- celkový antigen	Nativní HSV1- a HSV2- celkový antigen.	specifický
gG1	Rekombinovaný, specifický glykoprotein ze soustavy Baculovirů.	vysoce specifický pro HSV1
gG2	Specifický glykoprotein izolovaný afinitní chromatografií.	vysoce specifický pro HSV2

9.4 Kritéria vyhodnocení

Do interpretace sérologických výsledků by měl být vždy zahrnut klinický obraz, epidemiologická data a další disponibilní laboratorní nálezy.

Doporučené posuzování

Pokud je u pásu celkového antigenu HSV detekován pouze pás gG1 nebo pouze pás gG2, výsledek je třeba považovat za nepravděpodobný, a měl by být ověřen nějakou jinou metodou.

Posouzení pásek			Celkové posouzení	
HSV celkový antigen	gG1	gG2	HSV-1	HSV-2
-	-	-	negativní	negativní
Jen jeden izolovaný pás			nepravděpodobný	nepravděpodobný
+	gw	-	hraniční	negativní
+	-	gw	negativní	hraniční
+	gw	gw	hraniční	hraniční
+	+	-	pozitivní	negativní
+	-	+	negativní	pozitivní
+	gw	+	hraniční	pozitivní
+	+	gw	pozitivní	hraniční
+	+	+	pozitivní	pozitivní

9.5 Meze testu

- Negativní výsledek Blotu úplně nevylučuje možnost nákazy s HSV1 a/nebo HSV2. Zkušební vzorek mohl být vyjmut před vznikem protilátek nebo titr protilátek leží pod hranicí dokazatelnosti testu. V těchto případech se doporučuje sérologie IgM.
- Tvorbu protilátek může ovlivnit terapie přípravkem Acyclovir (15).
- Genetická variabilita proteinu gG2 může k gG2 zavést negativní kmeny HSV2.
- Ve vzácných případech mohou séra pacientů vykazovat inverzní pásy (tmavý podklad, bílé pásy); toto nelze posuzovat, tzn., že immunoblot nelze v těchto případech vyhodnotit. Sérum by mělo být otestováno jinými sérologickými metodami.

10. Literatura

- 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. Virol J. 6,40
- 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, Sähli R, Meylan PR. 2004. Seroepidemiology of Herpes Simplex virus type 1 and 2 in Western and Southern Switzerland in adults aged 25 to 74 in 1992 to 1993 : 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. Schéma průběhu testu

Provedení testu ve zkratce:

inkubace vzorků	30 minut	15 µl séra/plazmy pacienta / 100 µl zkouška vždy do 1,5 ml šedicího/promývacího pufru
Promývání	3 x 5 minut	Vždy s 1,5 ml šedicího/promývacího pufru
Inkubace konjugátu	30 minut	S 1,5 ml pracovního séra (1 + 100)
Promývání	3 x 5 minut 1 x 1 minuta	Vždy s 1,5 ml šedicího/promývacího pufru S destilovanou nebo deionizovanou vodou
Inkubace substrátu	10 ± 3 minuty	Vždy s 1,5 ml substrátového roztoku
Zastavení	3 x bez meziinkubace	Vždy s 1,5 ml destilované/deionizované vody

Tabulka šedicí konjugátu: (zaokrouhleno)

Pojet proužků	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
šedicí/promývací pufr	1,5ml	3,0ml	4,5ml	6,0ml	7,5ml	9,0ml	11,0ml	12,0ml	14,0ml	15,0ml
Koncentrát konjugátu	15µl	30µl	45µl	60µl	75µl	90µl	110µl	120µl	140µl	150µl
Konečný objem	1,515ml	3,03ml	4,545ml	6,06ml	7,575ml	9,09ml	11,11ml	12,12ml	14,14ml	15,15ml

Pojet proužků	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
šedicí/promývací pufr	17,0ml	18,0ml	20,0ml	21,0ml	23,0ml	24,0ml	26,0ml	27,0ml	29,0ml	30,0ml
Koncentrát konjugátu	170µl	180µl	200µl	210µl	230µl	240µl	260µl	270µl	290µl	300µl
Konečný objem	17,17ml	18,18ml	20,2ml	21,21ml	23,23ml	24,24ml	26,26ml	27,27ml	29,29ml	30,3ml

Pojet proužků	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
šedicí/promývací pufr	32,0ml	33,0ml	35,0ml	36,0ml	38,0ml	39,0ml	41,0ml	42,0ml	44,0ml	45,0ml
Koncentrát konjugátu	320µl	330µl	350µl	360µl	380µl	390µl	410µl	420µl	440µl	450µl
Konečný objem	32,32ml	33,33ml	35,35ml	36,36ml	38,38ml	39,39ml	41,41ml	42,42ml	44,44ml	45,45ml

Pojet proužků	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
šedicí/promývací pufr	47,0ml	48,0ml	50,0ml	51,0ml	53,0ml	54,0ml	56,0ml	57,0ml	59,0ml	60,0ml
Koncentrát konjugátu	470µl	480µl	500µl	510µl	530µl	540µl	560µl	570µl	590µl	600µl
Konečný objem	47,47ml	48,48ml	50,5ml	51,51ml	53,53ml	54,54ml	56,56ml	57,57ml	59,59ml	60,6ml