

VIROTECH Borrelia in vivo IgG LINE Immunoblot
(Borrelia in vivo IgG LINE-32; Borrelia in vivo IgG LINE-96)

Rendelési szám: WE222G32; WE222G96

VIROTECH Borrelia in vivo IgM LINE Immunoblot
(Borrelia in vivo IgM LINE-32; Borrelia in vivo IgM LINE-96)

Rendelési szám: WE222M32; WE222M96

VIROTECH Borrelia in vivo + TpN17 IgG LINE Immunoblot
(Borrelia in vivo + Tpn17 IgG LINE-32; Borrelia in vivo + TpN17 IgG LINE-96)

Rendelési szám: WE223G32; WE223G96

CSAK IN VITRO DIAGNOSZTIKAI CÉLOKRA



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Németország

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

E-mail-cím: info.frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

Webhely: clinical.goldstandarddiagnostics.com



Tartalom

1. Alkalmazás célja	3
2. A teszt működési elve	3
3. A csomag tartalma	3
3.1 Készlet 32 meghatározáshoz	3
3.2 Készlet 96 meghatározáshoz	3
4. A tesztkit és a reagensek tárolása és eltarthatósága	4
5. Óvintézkedések és biztonsági előírások	4
6. További szükséges anyagok (a csomag nem tartalmazza)	4
7. Vizsgálati anyag	5
8. A vizsgálat elvégzése	5
8.1 A minták előkészítése	5
8.2 A reagensek előkészítése	5
8.3 Az immunoblot vizsgálat elvégzése	5
8.4 Immunoblot-processzorok alkalmazása	6
9. A vizsgálati eredmények kiértékelése	6
9.1 A betegminták kiértékelése	6
9.2 A határérték (cut-off) kontrollok alkalmazása	7
9.3 Az antigének jelentése	7
9.4 Kiértékelési szempontok	9
9.5 A teszt határai	10
10. Irodalom	11
11. A teszt folyamatának vázlata	14

1. Alkalmazás célja

Immunoblot csík tesztkészlet *B.burgdorferi sensu lato*-specifikus IgG- ill. IgM antitestek mennyiségi meghatározására humán szérumból.

A Lyme-borreliózis szérumdiagnostikája mellett az IgG Line immunoblot a neuroborreliózis likvordiagnostikájára is alkalmas. Likvordiagnostika során kérjük, kövesse a külön (likvordiagnostikai) munkavégzési útmutatót.

2. A teszt működési elve

A kórokozó antigéneket speciális fuvatási eljárással átviszik nitrocellulóz-membránra. A nitrocellulóz membránt ezután csíkokra vágják.

Az antigénhordozó nitrocellulóz csíkok humán szérum- vagy plazmamintákkal való inkubációja lehetővé teszi a jelenlévő specifikus antitestek kimutatását. Ezek az antitestek immunkomplexeket képeznek a tesztcsíkokra rögzített antigénnel. A meg nem kötött antitesteket mosási lépések során eltávolítják, majd a nitrocellulóz-csíkokat alkalikus foszfatázzal konjugált anti-humán IgG illetve IgM antitestekkel inkubálják. Miután a meg nem kötött konjugált antitesteket egy további mosási lépéssel eltávolítják, az antigén-antitest komplexek (a megkötött antitestek) láthatóvá tétele következik egy színtelen szubsztrát hozzáadásával, mely enzimatisz átalakítás után ibolyakék színű csíkokat („antigén sávokat“) eredményez. Az enzim-szubsztrát reakciót a nitrocellulóz-csíkok desztillált vagy ioncserélt vízben történő mosásával állítják le. A megjelenő csíkok mintázata alapján következtethetünk specifikus IgG illetve IgM antitestek jelenlétére.

3. A csomag tartalma

3.1 Készlet 32 meghatározáshoz

1. IgG ill. IgM Nitrocellulóz csíkok porlasztással felvitt antigénnel, fóliával megerősítve, füzetekbe kötve, felhasználásra kész	1x	32 csík
2. IgG ill. IgM határérték (cut-off) kontroll , humán szérum, előhígított	1x	1,0 ml
3. Hígító- /mosópuffer , pH 7,3 (10x konc.), Tris pufferben, tartósítószerrel	2x	50 ml
4. IgG- ill. IgM-konjugátum (100x konc.) Anti-humán, (kecske) alkalikus foszfatáz, tartósítószerrel	1x	0,7 ml
5. Szubsztrát (BCIP/NBT), felhasználásra kész	1x	57 ml
6. Kiértékelési protokoll az eredmények jegyzőkönyvezéséhez és archiválásához	1x	1 db

3.2 Készlet 96 meghatározáshoz

1. IgG ill. IgM Nitrocellulóz csíkok porlasztással felvitt antigénnel, fóliával megerősítve, füzetekbe kötve, felhasználásra kész	3x	32 csík
2. IgG ill. IgM határérték (cut-off) kontroll , humán szérum, előhígított	2x	1,0 ml
3. Hígító- /mosópuffer , pH 7,3 (10x konc.), Tris pufferben, tartósítószerrel	4x	50 ml
4. IgG- ill. IgM-konjugátum (100x konc.) Anti-humán, (kecske) alkalikus foszfatáz, tartósítószerrel	3x	0,7 ml
5. Szubsztrát (BCIP/NBT), felhasználásra kész	3x	57 ml
6. Kiértékelési protokoll az eredmények jegyzőkönyvezéséhez és archiválásához	3x	1 db

Kérésre külön kapható:

IgG ill. IgM- Pozitív kontroll, humán szérum, előhígított, 0,5 ml.

A pozitív sávok $\geq$ határérték (cut-off) sávok a mellékelt tanúsítványban találhatóak
(Rendelési szám: IgG: WE222P60 / WE223P60 ill. IgM: WE222P80)

IgG/IgM- Negatív kontroll, humán szérum, előhígított, 0,5 ml.

A negatív kontrollon nem láthatóak sávok, ill. nem láthatóak a releváns sávok és $\geq$ határérték (cut-off) sávok kiértékeléséhez szükséges sávok.

(Rendelési szám: IgG/IgM: WE222N10 ill. WE223N60)

4. A tesztkit és a reagensek tárolása és eltarthatósága

A tesztkitet 2-8°C között kell tárolni. Az egyes komponensek eltarthatósága azok címkéjén található; a kit eltarthatósága tekintetében lásd a minőségellenőrzési tanúsítványt.

1. Az egyes reagenseket nem szabad lefagyasztani illetve magas hőmérsékletnek kitenni.
2. A reagenseket a lejáratí időn túl nem szabad felhasználni.
3. Kerülje a reagensek erős fényben történő tárolását.
4. A BCIP / NBT szubsztrátoldat fényérzékeny, ezért sötétben kell tárolni.
5. **Nitrocellulóz tesztcsíkok:** A tasakból kivett tesztcsíkokat azonnal fel kell használni. A fel nem használt csíkokat tartalmazó tasakot azonnal vissza kell zární és 2-8°C között kell tárolni. Az eredmények archiválásához (a csíkok kifakulásának megakadályozására) a nitrocellulóz tesztcsíkokat feltétlenül védeni kell a közvetlen napfénytől.

Anyag	Állapot	Tárolás	Stabilitás
Vizsgálati minták	hígítatlan	+2 és +8°C között	1 hét
Tesztcsíkok	felbontás után	+2 és +8°C között (Tárolás a mellékelt tasakban)	3 hónap
Kontrollok	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
Konjugátum	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
	hígított	+2 és +8°C között	kb. 6 óra
Szubsztrátum	felbontás után	+2 és +8°C között (fénytől védve)	3 hónap
Mosóoldat	felbontás után	+2 és +8°C között (fénytől védve)	3 hónap
	végéhígított (használatra kész)	+2 és +8°C között	4 hét
	végéhígított (használatra kész)	vagy szobahőmérséklet	2 hét

5. Óvintézkedések és biztonsági előírások

1. Kontrollszérumként csak tesztelt és HIV1-antitestekre, HIV2-antitestekre, HCV-antitestekre és Hepatitis-B felületi antigénekre negatív eredményt mutatott szérum kerül alkalmazásra. Ennek ellenére valamennyi minta, hígított minta, konjugátum és nitrocellulóz tesztcsík potenciálisan fertőző anyagnak tekintendő, és ennek megfelelő óvatossággal kezelendő. A termékeke kezelése a laboratóriumi munkára általánosan vonatkozó szabályok szerint történjen.
2. Az immunoblot kivételzése során viseljen eldobható kesztyűt és használjon műanyag csipeszt.
3. A keletkezett hulladékot az érintett ország rendelkezéseinek megfelelően kell tárolni és elhelyezni.
4. Az inkubációs kádakat a gyártó csak egyszeri használatra fejlesztette ki. Az inkubációs kádak többszöri használata a felhasználó felelőssége. Ha a többszöri használat mellett dönt, javasoljuk, hogy az inkubációs kádakat használat után fertőtlenítsen több órán keresztül 1% nátrium-hipoklorit oldatban, mosogassa el és alaposan öblítse el csapvízzel majd desztillált vagy ioncserélt vízzel.

6. További szükséges anyagok (a csomag nem tartalmazza)

1. Inkubációs kanna (igény esetén megrendelhető a WE300 rendelési számon)08)
2. Rázógép (vertikális, nem körkörös)
3. Spricflaska a reakció leállításához
4. Pipetta vagy kézi mosó készülék
5. Mikropipetták: 5 µl – 1500 µl
6. Pipettahegyek
7. Mintaedények (csövek) 2-20 ml térfogattal
8. Műanyag csipesz
9. Desztillált vagy ioncserélt víz
10. Filterpapír

7. Vizsgálati anyag

Vizsgálati anyagként használható szérum és plazma (itt az antikoagulálás módjának nincs jelentősége), még akkor is, ha a csomagmellékletben csak szérumról van szó. Kérjük, liquor alkalmazásához nézze meg a külön Liquor LINE használati útmutatót.

8. A vizsgálat elvégzése

A munkautasítások pontos betartása a helyes eredmények elérésének előfeltétele.

8.1 A minták előkészítése

1. Páciensmintánként 15 µl szérum vagy plazma szükséges. A **liquor- és szérumfeldolgozás**nál csak az Ig-osztályonként külön-külön, individuálisan kiszámolt liquor- és szérumhígítás alkalmazható (lásd a Liquor LINE használati útmutatót).
2. A vérmintákat aseptikusan, a véna megszurásával kell levenni. Teljes alvadás után le kell választani a szérumot (plazmánál kiesik). Hosszabb tároláshoz a szérumokat –20°C-ra le kell fagyasztani.
3. A többszöri felolvasztást kerülni kell.
4. Hőinaktivált, hiperlipémiás, hemolitikus és mikrobiológiailag fertőzött mintákat nem szabad felhasználni, mivel hamis eredményekhez vezethetnek.
5. Zavaros szérummintákat (különösen felolvasztás után) nem szabad felhasználni. Centrifugálás (5 perc, 1000 g) után a tiszta felülúszót lepipettázva, azt használja fel a tesztben.

8.2 A reagensek előkészítése

1. A laboratóriumi rutinmunkát segítő az összes LINE és EcoBlot egyetlen tesztfutamban, azonos inkubációs idővel, különböző paraméterű és különböző gyártási tételbe tartozó komponensekkel feldolgozható. Az alkalmazandó határérték (cut-off) kontrollok paraméter- és sarzsspecifikusak.
2. Hígítás előtt engedjen minden reagenst felmelegedni szobahőmérsékletre. Csak a legjobb minőségű, szobahőmérsékletű desztillált vagy ioncserélt vizet használjon.
3. A kihígított munkaoldatokat alkalmazás előtt alaposan keverje fel.
4. **Hígító- /mosópuffer**
A hígító- /mosóoldat 10-szörös töménységben kerül kiszerezésre. A hígító- /mosóoldatot 01:10:00 arányban hígítsa desztillált vagy ioncserélt vízzel (10ml/50ml/100ml koncentrátum + 90ml/450ml/900ml deszt./ioncserélt víz) és alaposan keverje meg.
A hígító-/mosófolyadék, mind tömény, mind hígított állapotban sárga elszíneződést mutathat. Ez a sárga elszíneződés sem a hígító-/mosófolyadék eltarthatóságát, sem a teszt eljárás működését és diagnosztikai megbízhatóságát nem befolyásolja.
5. **IgG- ill. IgM-konjugátum:**
A konjugátumot hígítsa fel 1:100 arányban (megfelelően kihígított) hígító- /mosópufferben és jól keverje meg. Szérum mintánként 1,5 ml konjugátum munkaoldat szükséges. Ld. konjugációs hígítási táblázat (12. pont: „A teszt folyamatának vázlata”).
6. **Szubsztrátoldat**
A szubsztrátoldatot felhasználásra kész állapotban csomagoljuk és szállítjuk.

8.3 Az immunoblot vizsgálat elvégzése

Vigyázat: A nitrocellulóz tesztcsíkokat csak a megadott Ig osztályban szabad alkalmazni (ld. a blotfüzetek címkéjét és az egyes tesztcsíkok jelölését).

A Borrelia in vivo LINE teszt korrekt végrehajtása és kiértékelése érdekében minden teszt során egy paraméter- és sarzsspecifikus határérték (cut-off) kontroll tesztet is el kell végezni.

A Borrelia biztonságos diagnosztizálásához az LINE tesztet az IgG és IgM osztályban is ajánlott elvégezni.

1. A tesztet szobahőmérsékleten kell végezni.

2. Minden mintához helyezzen egy csíkot egy tiszta inkubációs kád barázdájába. A csíkokat lehetőség szerint csak a megjelölt felső végükön érintse.
3. Pipettázzon 1,5 ml felhasználásra kész **hígító- /mosópuffer** minden tesztsíkra és helyezze az inkubációs kannát a rázógépre. Ügyeljen rá, hogy a folyadék egyenletesen fedje be a nitrocellulóz tesztsíkokat; a csíkoknak a teszt során végig nem szabad kiszáradniuk.
4. A megerősített nitrocellulóz csíkok egy perc alatt teljesen átnedvesednek és tetszés szerint inkubálhatóak a hátukra, oldalukra vagy elülső felükre fektetve.
5. Egyenként **15 µl páciensszérumot/-plazmát**, illetve **100 µl határérték / pozitív / negatív kontrollt** kell hozzápipettázni, lehetőleg a csík felső, megjelölt végére. Inkubálja **30 percig** a betegszérumot és kontrollokat a rázógépből. Pipetázás és a folyadékok leöntése során ügyeljen arra, hogy az egyes betegmintáknál ne fordulhasson elő keresztkontamináció.
6. A barázdákból a folyadék teljes mennyiségét szívja ki vagy óvatosan öntse le. A folyadék leöntésekor a nitrocellulóz csíkok a barázdák aljához tapadva maradnak. A maradék folyadékot csepegtesse ki egy papírtörölközőre.
7. A csíkok **mosása**: inkubálja a csíkokat a rázógépből, csíkonként 1,5ml felhasználásra kész hígító- /mosópufferben, **3 x 5 percig**. A mosópuffert mindig szívja le vagy öntse le teljes egészében. Az utolsó mosási lépés befejezése előtt készítsen el (hígítsa ki) a szükséges mennyiségű konjugátum munkaidőadatát (ld. táblázat).
8. A barázdákból a folyadék teljes mennyiségét szívja ki vagy óvatosan öntse le (ld. 6. pont).
9. Csíkonként pipetázzon 1,5 ml-t az előzőek szerint elkészített **konjugátum munkaidőadatból** a megfelelő inkubációs barázdákba és inkubálja a csíkokat **30 percig** a rázógépből.
10. A barázdákból a folyadék teljes mennyiségét szívja ki vagy öntse le.
11. A csíkok **mosása**: inkubálja a csíkokat a rázógépből, csíkonként 1,5ml felhasználásra kész hígító- /mosópufferben **3 x 5 percig**. A mosópuffert mindig szívja le vagy öntse le teljes egészében. Végül öblítse le a csíkokat **1 x 1 percig** desztillált vagy ioncserélt vízben.
12. A barázdákból a folyadék teljes mennyiségét szívja ki vagy óvatosan öntse le (ld. 6. pont).
13. Csíkonként pipetázzon 1,5 ml-t **szubsztrátoldatból** a barázdákba és hívja elő a csíkokat **10 ± 3 percig** a rázógépből.
14. Az előhívást (a szín megjelenését) a szubsztrátoldat leöntésével **állítsa le**. Végül mossa le a csíkokat **3 x 1,5 ml desztillált vagy ioncserélt vízzel** (inkubáció nélkül).
15. Öntse le a desztillált vagy ioncserélt vizet és szárítsa meg a csíkokat egy tiszta papírtörölközőn. A nedves nitrocellulóz tesztsíkokon megfigyelhető háttér-elszíneződés a csíkok megszáradásával teljesen eltűnik. A megerősített nitrocellulóz tesztsíkok a közönséges nitrocellulóz tesztsíkokhoz viszonyítva valamivel hosszabb időt igényelnek a száradáshoz.
16. A kiértékeléshez használja a mellékelt kiértékelési protokollt. A specifikus sávok feliratozása a protokoll-lapon és közvetlenül a nitrocellulóz filteren megkönnyíti a betegminták kiértékelését.

A teszt folyamatának vázlatát ld. az utolsó oldalon

8.4 Immunoblot-processzorok alkalmazása

A blotok és LINE-ok automatikus feldolgozására az alábbi eszközök vannak jóváhagyva: Apollo és Profiblot. Alapjában véve minden kereskedelembe kapható blotautomata alkalmas.

9. A vizsgálati eredmények kiértékelése

A biztos kiértékeléshez minden LINE csík két kontrollal van ellátva:

1. **Szérum kontroll** (= serum control):
Csak a betegszérummal való inkubáció után jelenik meg a jelölési vonal (=markline) alatt a széruminkubációs sáv.
2. **Konjugációs kontroll** (= conjugate control):
Az LINE csíkon egy konjugációs kontroll sáv található, mely a megfelelő konjugátummal való inkubálás hatására jelenik meg.

A végrehajtott teszt akkor érvényes, ha az előhívott nitrocellulóz tesztsíkon mind a szérumkontroll, mind a belső konjugációs kontroll sáv egyértelműen látható.

A szérum- és konjugációs sávok pozícióját a protokoll-lapon találja.

9.1 A betegminták kiértékelése

A reagáló sávok pozícióját és leírását a jegyzőkönyv lapon találja.

IgM-sávok: OspC, VlsE-Mix, p39 és egy EBV-sáv kizárásos diagnosztikához

IgG-sávok: VlsE-Mix, p39, p83/100, (iv1), (iv2), (iv3), (iv4) és TpN17-sávok kizárásos diagnosztikához (csak WE 223G esetén)

9.2 A határérték (cut-off) kontrollok alkalmazása

A határérték (cut-off) sávok intenzitásánál gyengébb sávokat a kiértékelés során nem szabad figyelembe venni.

IgM cut-off sáv: OspC

IgG cut-off sáv: VlsE-Mix

9.3 Az antigének jelentése

Az alkalmazott nagytisztaságú (OspC) és rekombináns (VlsE, p83/100, p39, BBA36, BBO323, Crasp3 és pG) *Borrelia burgdorferi* –antigének, a gp125 EBV-Vírus kapszid antigén és a TpN17 antigén felsorolása. A VlsE-Mix a *Borrelia burgdorferi* s. s. genospecies és a *Borrelia garinii* két rekombináns antigénjét tartalmazza.

Antigén/ Megnevezés	Az antigén jelentősége	Az antitestek specifitása a LINE-ben	Eredeti törz- sek/megtisztítás
OspC (p23), tisztított natív antigén	Outer surface-protein C. Plazmiddal kódolt lipoprotein (6, 22, 26, 28). Fontos jelző az IgM-szerológiában a Lyme-Borreliosis korai megnyilvánulásakor (1, 4, 8, 9, 15, 22, 28, 29, 31, 32). <u>Biológiai jelentőség:</u> A <i>B. burgdorferi</i> s. l. számára szükséges az OspC, feltehetően az emlős gazdaállat sikeres kezdeti megfertőzéséhez (46, 47, 48, 49). A spirochaeták OspC-t fejeznek ki a kullancsban a vérszívás alatt, és az emlős gazdaállat fertőzésének korai szakaszában (46). A spirochaeták emlősre való átvitele után az OspC-kifejezés ismét szabályozódik. Úgy tűnik, hogy a lipoprotein nem szükséges továbbra is fennálló fertőzéshez (47, 47). Tilly et al. feltételezik, hogy az OspC az emlős gazdaállat fertőzésének korai fázisában megakadályozza a spirochaeták fagocitózisát (50).	Specifikus (3, 8, 22, 28, 30, 31, 32)	<i>B. afzelii</i> PKo (eredetileg emberi Erythema migrans lézióból izolálva Németországban) / megtisztítva előkészítő SDS-Page segítségével
VlsE, rekombináns	Variable major protein like sequence E. <i>In vivo</i> kifejezett <i>B. burgdorferi</i> -lipoprotein, amely a konzervált – genospecies tagokon túlnyúló – erősen immunogén epitópot mutatja. Az IgM-szerológiában megfigyelték VlsE-vel szembeni reaktivitást, különösen korai Lyme-Borreliosisban szenvedő betegektől származó szérum esetén. Az IgG-szerológiában megfigyelték VlsE-vel szembeni reaktivitást, korai és előrehaladott Lyme-Borreliosisban szenvedő betegektől származó szérum esetén. A VlsE az IgG-szerológiában a betegség stádiumán túlnyúló Lyme-Borreliosis jelzőként szolgál. A VlsE egy 35 kDa antigén, amely az lp28-1-re kódolt (2). <u>Biológiai jelentőség:</u> A <i>B. burgdorferi</i> s.l. képes a fertőzött emlősökben fennmaradni annak aktív immunválasza ellenére. Feltételezhető, hogy a VlsE felületi fehérje kombinatorikus antigénvariációja – "immunmenekülési" mechanizmusként – hozzájárul ehhez a fennmaradáshoz (51, 52, 53).	Specifikus	<i>B. burgdorferi</i> B31 (eredetileg egy fertőzött kullancsból izolálva New York állam Shelter szigetén), <i>B. garinii</i> IP90 (eredetileg egy fertőzött kullancsból izolálva Oroszországban) / <i>E. coli</i> -ból tisztítva Ni-NTA-affinitáskromatográfiával
p39 (BmpA), rekombináns	Borrelial membrane protein A. Kromoszóma-kódolt (6, 19), az IgG-szerológiában központi jelző disszeminált Lyme-Borreliosis fertőzésekre (4, 8, 18). A Bmp-fehérjék ismeretlen funkciójú lipoproteinek.	Erősen specifikus (4, 5, 6, 8, 14, 15, 18, 31, 32)	<i>B. afzelii</i> PKo (eredetileg emberi Erythema migrans lézióból izolálva Németországban) / megtisztítva <i>E. coli</i> -ból Ni-NTA-affinitáskromatográfiával

p83/100, rekombináns	Kromoszóma-kódolt, protoplazmahengerhez társított antigén (12, 13), a <i>B. burgdorferi</i> s. l.-en belül konzerválva (17). Az IgG-szerológiában központi jelző előrehaladott Lyme-Borreliosisra (8, 24, 29).	Erősen specifikus (3, 5, 8, 22, 24, 29, 31)	<i>B. afzelii</i> PKo (eredetileg emberi Erythema migrans lézióból izolálva Németországban) /megtisztítva <i>E. coli</i> -ból Ni-NTA-affinitáskromatográfiával
BBA36 (iv1)*, rekombináns	<i>In vivo</i> kifejezett 22 kDa <i>B. burgdorferi</i> antigén, amely lp54-re kódolt. A BBA36 felmutat konzervált – genospecies tagokon átnyúló – erősen immunogén epitópot. Az IgG-szerológiában a BBA36 fontos jelző előrehaladott Lyme-Borreliosisra (disszeminált fertőzések) (10).	Erősen specifikus	<i>B. afzelii</i> MMS (eredetileg fertőzött kullancsból izolálva Németországban)/ megtisztítva <i>E. coli</i> -ból Ni-NTA-affinitáskromatográfiával
BBO323 (iv2)*, rekombináns	<i>In vivo</i> kifejezett 42 kDa <i>B. burgdorferi</i> -antigén, amely kromoszóma-kódolt. A BBO323 felmutat konzervált – genospecies tagokon átnyúló – erősen immunogén epitópot. A BBO323 fontos jelző az IgG-szerológiában előrehaladott Lyme-Borreliosis (disszeminált fertőzések) esetén. (54)	Specifikus	<i>B. burgdorferi</i> ZS7 (eredetileg fertőzött kullancsból izolálva Németországban)/ megtisztítva <i>E. coli</i> -ból Ni-NTA-affinitáskromatográfiával
Crasp3 (iv3)*, rekombináns	Complement regulator-acquiring surface protein3. <i>In vivo</i> kifejezett 21 kDa <i>B. burgdorferi</i> -felületi antigén, amely cp32-8-ra kódolt. Az Erp-család tagja. Az IgG-szerológiában fontos jelző előrehaladott Lyme-Borreliosisra (disszeminált fertőzések). A Crasp3 alátámasztja a komplement-rezisztenciát (11, 54).	Erősen specifikus	<i>B. burgdorferi</i> ZS7 (eredetileg fertőzött kullancsból izolálva Németországban)/ megtisztítva <i>E. coli</i> -ból Ni-NTA-affinitáskromatográfiával
pG (iv4)*, rekombináns	<i>In vivo</i> kifejezett 22 kDa <i>B. burgdorferi</i> antigén, amely cp32-3-ra kódolt. Az Erp-család tagja. Az IgG-szerológiában fontos jelző előrehaladott Lyme-Borreliosisra (disszeminált fertőzések) (16).	Erősen specifikus	<i>B. burgdorferi</i> ZS7/ <i>B. afzelii</i> MMS (eredetileg fertőzött kullancsból izolálva Németországban)/ megtisztítva <i>E. coli</i> -ból Ni-NTA-affinitáskromatográfiával
EBV VCA-gp125	Immundomináns Epstein Barr “ V írus K apszid A ntigén”. A VCA-gp125 elleni LgM-antitestek újra eltűnnek, rendszerint néhány héttel az EBV-fertőzés után.	Erősen specifikus jelző az IgM-szerológiában elsődleges EBV-fertőzés esetén	A gp125 megtisztítása egészejt li-zátumból (EBV-vel fertőzött humán sejtek) történik, affinitáskromatográfia használatával, monoklonális anti-gp125 antitestek használatával
<i>Treponema pallidum</i> TpN17 rekombináns	Jelző elsődleges, másodlagos és latens szifilisz esetén	erősen specifikus minden fertőzési állapotra	<i>Treponema pallidum</i> / <i>E. coli</i> -ból tisztítva Ni-NTA-affinitáskromatográfiával

(csak WE223G esetén)			
----------------------	--	--	--

*(iv1-4) = in vivo (iv) expresszált antigének

9.4 Kiértékelési szempontok

A szerológiai eredmények interpretációja során mindig figyelembe kell venni a klinikai összképet, az epidemiológiai adatokat valamint az esetlegesen rendelkezésre álló további laboratóriumi leleteket.

A *Borrelia* antigének javasolt összesítő (IgM + IgG) értékelése

A biztonságos *Borrelia* diagnosztikához mind az IgG mind az IgM osztályú LINE teszteket el kell végezni és együttesen kell kiértékelni azokat.

Csak a kimutatási határérték (cut-off) sávok intenzitásával megegyező vagy annál nagyobb intenzitású sávok értékelendők pozitívnak.

IgM-ben fellépő sáv(ok)		IgG-ben fellépő sáv(ok)	Megítélés
Nincs sáv ill. < határérték (cut-off) sáv.	vagy	Nincs sáv ill. < határérték (cut-off) sáv. vagy 1 IgG sáv (kivéve VlsE)	negatív
1 IgM sáv (kivéve OspC)	vagy	VlsE IgG sáv	határérték
OspC IgM sávok vagy ≥ 2 IgM sáv	vagy	≥ 2 IgG sáv	pozitív
1 IgM sáv	és	1 IgG sáv	pozitív (*)

(*) A szürke sorban leírt jelkombináció egyetlen IgM és egyetlen IgG sáv kombinációját jelzi, melyeket az összértékelésben (IgM+IgG) pozitívnak értékelünk.

Pozitív EBV-gp125 IgM-szerológiai eredmény esetén javasolt értékelés

Elsődleges EBV-fertőzés során a poliklonális B-sejt stimuláció a *Borrelia burgdorferi sensu lato* antigének elleni antitestreakciót eredményezhet (55). Ez hamis pozitív Lyme borreliosis lelethez vezethet. Az ilyen jellegű téves diagnózisok minimális mennyiségűre csökkentése érdekében tartalmazza a VIROTECH *Borrelia* in vivo IgM LINE Immunoblot az Epstein Barr vírus kapszid (Viral Capsid Antigen) gp125 antigént. Ha az IgM- és/vagy IgG-szerológiában a *Borrelia*-antigének mellett a gp125 is reagál az IgM határértéksávéval meghaladó intenzitással, a biztonság kedvéért a szérum teljes EBV-állapotát felül kell vizsgálni (pl. a VIROTECH EBV IgG LINE Immunoblot reagenssel, rendelési szám: WE102G32/96 és VIROTECH EBV IgM LINE Immunoblot reagenssel, rendelési szám: WE102M32/96).

A **EBV-gp125** -sáv nincs érvényesítve likvordiagnostikában való alkalmazásra.

A Tpn17-sáv ajánlott értékelése

A *Treponema pallidum* Tpn17 antigénsáv (csak WE223G esetén)

A Lyme borreliosis szerodiagnostikában megfigyelhetők keresztreakciók más mikroorganizmusokkal. Ennél fontos szerepet játszanak a herpeszvírus-fertőzések (különösen az EBV), valamint bakteriális megbetegedések, pl. a syphilis. A Lyme

borreliosis MiQ12/2000 javasolja: „Határesetű vagy pozitív keresési teszt (Megjegyzés: a Lyme-borreliosis szerológia) esetén el kell végezni Lues-keresési tesztet (pl. TPHA), hogy ki lehessen zárni a a treponema-antitestek keresztreagálása miatti tévesen pozitív eredményeket.”

A TpN17-sáv szolgál tévesen határesetű/pozitív eredmények felismerésére a Lyme borreliosis szerodiagnosztikában, *Treponema pallidum*-fertőzés (syphilis) keresztreagáló antitestjeinek révén.

Ha az IgM- és/vagy IgG-reagensben VIROTECH Borrelia in vivo + TpN17 IgG LINE Immunoblot esetén $\geq$ az IgG határértéksáv TpN17-sávja és egyidejűleg a borreliosis antigén is reagál, a biztonság kedvéért a szérum teljes syphilis-állapotát felül kell vizsgálni (pl. a VIROTECH Treponema pallidum IgG LINE Immunoblot reagenssel, rendelési szám: WE150G16/32 és VIROTECH Treponema pallidum IgM LINE Immunoblot reagenssel, rendelési szám: WE150M16/32).

Feltétlenül figyelembe kell venni:

- Érzékenység és specificitás vonatkozásában a TpN-17 sáv nem helyettesítheti a teljes, differenciális syphilis diagnózist.
- Negatív TpN17-antigénsáv nem zárja ki alapvetően a *Treponema pallidum* elleni antitestek jelenlétét.
- A TpN17-antigénsávval kapott pozitív eredményt megfelelő *Treponema pallidum* megerősítő teszttel (pl. VI-ROTECH WE150) kell bizonyítani.
- A TpN-17-sáv nincs érvényesítve likvordiagnosztikában való alkalmazásra.

Tipikus leletkonstellációk

A Borrelia in vivo LINE csíkokon az antigének olyan sorrendben követik egymást, hogy az elsősorban a Lyme borreliosis korai stádiumában szenvedő betegek antitestjeivel reagáló antigének (pl.: OspC, VlsE-IgM, VlsE-IgG) a csík felső részén (a jelölés felőli részen) találhatóak. Az elsősorban az előrehaladott Lyme borreliosisban szenvedő betegek antitestjeivel reagáló antigének (pl.: p83, BBA36, BBO323, Crasp3, pG) a csík alsó részén (a jelöléstől távol eső részen) találhatóak. Így a sávok megoszlása már ránézésre is utal a fertőzés stádiumára (a koraitól a késői fázisú Lyme borreliosisig).

Példák gyakoribb sávkonstellációkra az alábbi fertőzési stádiumok esetén:

Borreliózis-stádium	IgM-szerológia:	IgG-szerológia:
korai Lyme-borreliózis	OspC	VlsE
	VlsE	VlsE
	p39	VlsE
	≥ 2 sáv	semmi vagy VlsE
	OspC	nincs
disszeminált Lyme-borreliózis	A pozitív IgM sávok száma a nullától az összesig terjedhet.	VlsE és p39
		2 sáv
előrehaladott Lyme-borreliózis	Az IgM sávok fokozatosan a háttérbe mosódnak	A fertőzés előrehaladtával rendszerint egyre több IgG sáv lép fel a legkülönbözőbb kombinációkban. p39, p83, VlsE, iv1-4 (BBA36, BBO323, Crasp3 és pG)

9.5 A teszt határai

- Negatív bloteredmény nem zárja ki teljesen egy *B. burgdorferi* s.l.- fertőzés lehetőségét. Lehetséges, hogy a mintát az antitestek megjelenése előtt vették, illetve, hogy az antitesttiter a teszt kimutatási határértéke alatt van.
- A betegek antibiotikum-kezelése a betegség korai stádiumában (35, 37) elnyomhatja az immunválaszt, és ebben az esetben nem lehet anti-*B. burgdorferi* specifikus antitestet kimutatni.

3. A *Borrelia* és egyéb Spirochaeták közti keresztreakció *Borrelia*-ra utaló sávok megjelenéséhez és ezáltal hamis pozitív eredményhez vezethet. Pl. az alábbi fertőzésekben szenvedő betegek szérumai adhatnak keresztreakciót: Szifilisz ((*Treponema pallidum*), framboesia (*Treponema pertenue*), febris recurrens (epidémiás visszatérő láz) (*Borrelia* fajok), leptospirozis (*Leptospira* fajok) (38). Hasonlóképpen herpesz vírusok (HSV, CMV, Parvovirus) esetében is előfordulhat keresztreakció (34, 39). Ha VIROTECH *Borrelia* in vivo + TpN17 LINE Immunoblot (WE223G) esetén a Lyme borreliosis antigén elleni reaktivitás mellett a TpN17-antigén elleni reaktivitás is megfigyelhető, akkor tekintetbe kell venni a 9.4. (A TpN17-sáv ajánlott értékelése) alatt megadott útmutatókat.
4. Elsődleges EBV-fertőzés során a poliklonális B-sejt stimuláció a *Borrelia burgdorferi sensu lato* antigének elleni antitestreakcióhoz vezethet (34, 39). Ha VIROTECH *Borrelia* in vivo IgM LINE Immunoblot esetén a borreliosis antigének elleni IgM- és/vagy IgG-reaktivitás mellett EBV-gp125 elleni reaktivitás is megfigyelhető, differenciáldiagnosztikával ki kell zárni a mononukleózist.
5. Ritka esetekben a betegszérumok "negatív" sávokat mutathatnak (sötét háttér, fehér sávok); ezeket a tesztek nem szabad figyelembe venni, az immunoblot ezekben az esetekben nem értékelhető. A szérumot más szerológiai módszerekkel kell ellenőrizni.

10. Irodalom

1. Agüero-Rosenfeld et al., 1993 Serodiagnosis in early Lyme disease. J. Clin. Microbiol. 31:3090-3095
2. Zhang, J-R. et al.; Antigenic variation in Lyme disease *Borrelia* by promiscuous recombination of VMP-like sequence cassettes; Cell 1997. 89:275-285
3. Bruckbauer et al., 1992 Cross reactive Proteins of *Borrelia burgdorferi*. Eur. J. Clin Microbiol. Infect. Dis. 11:224-232.
4. Dressler et al., 1993 Western blotting in the serodiagnosis of Lyme disease J. infect Dis. 176:392-400
5. Engstroem et al., 1995 Immunoblot Interpretation criteria for Serodiagnosis of Early Lyme Disease. J. Clin. Microbiol. 33:419-427
6. Fawcett et al., 1993 Detection of antibodies to the recombinant P39 protein of *Borrelia burgdorferi* using enzyme immunoassay and immunoblotting. J. Rheumatol. 20:734-738
7. Wilske et al., 12/2000, Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik für Lyme-Borreliose, pp. 38ff., Urban&Fischer Verlag
8. Hauser et al., 1997 Interpretation criteria for Standardized Western Blots for three European species of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. J. Clin. Microbiol. 35:1433-1444
9. Marianne J. Mathiesen et al., 1996 Analysis of the human antibody response to outer surface protein C (OspC) of *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii* and *B. afzelii*. Med. Microbiol. Immunol. 185:121-129
10. Wallich, R. et al.; Artificial-infection protocols allow immunodetection of novel *Borrelia burgdorferi* antigens suitable as vaccine candidates against Lyme disease; Eur. J. Immunol. 2003. 33:708-719
11. Kraiczy, P. et al.; Immune evasion of *Borrelia burgdorferi*: mapping of a complement inhibitor factor H-binding site of BbCRASP-3, a novel member of the Erp protein family; Eur. J. Immunol. 2003. 33:697-707
12. LeFebvre et al., 1990 The 83-kilodalton antigen of *Borrelia burgdorferi* which stimulates immunoglobulin M (IgM) and IgG responses in infected hosts is expressed by a chromosomal gene. Clin. Microbiol. 28:1673-1676
13. Luft et al., 1992 The 93-kilodalton protein of *Borrelia burgdorferi*: an immunodominant protoplasmic cylinder antigen. Infect. Immun. 60:4309-4321
14. Ma et al., 1992 Serodiagnosis of Lyme borreliosis by Western immunoblot: reactivity of various significant antibodies against *Borrelia burgdorferi*. J. Clin. Microbiol. 30:370-376
15. Moskophidis et al., 1995 Wertigkeit des Immunoblots in der Serodiagnostik der Lyme Borreliose. lab. Med. 19:231-237
16. Wallich, R. et al.; Molecular cloning and immunological characterization of a novel linear-plasmid-encoded gene, pG, of *Borrelia burgdorferi* expressed only in vivo; Infection and Immunity 1995 Sept:3327-3335
17. Roessler et al., 1995 Molecular and immunological characterization of the p83/100 protein of various *Borrelia burgdorferi sensu lato* isolates Med. Microbiol. Immunol. 184:23-32
18. Roessler et al., 1997 Heterogeneity of BmpA (P39) among European isolates of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and Influence of Interspecies variability on Serodiagnosis. J. Clin. Microbiol. 35:2725-2758
19. Simpson et al., 1990 reactivity of human Lyme borreliosis sera with a 39-kilodalton antigen specific to *Borrelia burgdorferi*. J. Clin. Microbiol. 28:1329-1337

20. RKI (1999), Ratgeber Infektionskrankheiten, Lyme-Borreliose, Epidemiologisches Bulletin, überarbeitete Auflage
21. Craft, J.E., Grodzicki, R.L. and Steere, A.C. (1984), Antibody response in Lyme disease: evaluation of diagnostic tests, J. Inf. Dis. 149:789-95
22. Wilske et al., 1986 Immunochemical and immunological analysis of European *Borrelia burgdorferi* strains. Zentralbl. Bakteri. Mikrobiol. Hyg. A 263:92-102
23. Dressler, F. (1994) Lyme borreliosis in European children and adolescents, Clinical and Experimental Rheumatology 12 (Suppl. 10) :49-54
24. Wilske et al., 1988 Immunochemische Analyse der Immunantwort bei Spätmanifestationen der Lyme Borreliose. Zbl. Bakt. Hyg. A 267:549-558
25. Pfister, H.-W., Wilske, B. (1994) Lyme borreliosis: basic science and clinical aspects, The Lancet Vol. 343: 1013-1015.
26. Wilske & Preac-Mursic 1993 Microbiological diagnosis of Lyme Borreliose in: Aspects of Lyme borreliosis: Weber, Burgdorferi eds. Springer, Berlin 267-300
27. Dressler, F., Ackermann, R. and Steere, A.C. (1994), Antibody responses to the three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* in European Lyme Borreliosis, J. Infect. Dis. 169: 313-318
28. Wilske et al., 1993 Immunological and Molecular Polymorphism of OspC, an Immunodominant Major Outer Surface Protein of *Borrelia burgdorferi*. J. Clin. Microbiol. 61:2182-2191
29. Wilske et al., 1994 Immunoblot using recombinant antigens derived from different genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato. Med. Microbiol. Immunol. 183:43-59
30. Wilske, 1995 Diagnostik der *Borrelia burgdorferi*-Infektion. Internist 36:114-119
31. Wilske et al., 1997 *Borrellien*. Diagnostische Bibliothek 48:1-12, Blackwell Verlag
32. Zöller et al., 1991, Validity of Western immunoblot band patterns in the serodiagnosis of Lyme borreliosis, J. Clin. Microbiol. 29:174-182
33. Oschmann und Kraiczy, (1998), Lyme-Borreliose und Frühsommer-Meningoenzephalitis", UNI-MED-Verlag
34. Horst, H. (1997), Einheimische Zeckenborreliose (Lyme-Krankheit) bei Mensch und Tier, 3., überarbeitete Auflage, Spitta Verlag: 128-130
35. Tewald, F. Braun, R. (1998), Durchführung und Interpretation serologischer Tests bei Verdacht auf Borrelieninfektion, Clin. Lab. 44: 897-902
36. Craft, J.E., Fischer, D.K., Shimamoto, G.T. and Steere, A.C. (1986), Antigens of *Borrelia burgdorferi* recognized during Lyme disease. Appearance of a new immunoglobulin M response and expansion of the immunoglobulin G late in the illness., J. Clin. Invest. 78: 934-39
37. Shrestha M., R.L. Grodzicki, A.C. Steere (1985) Diagnosing early Lyme disease. Am. J. Med. 78: 235-40
38. Magnarelli, L.A., J.F. Anderson and R.C. Johnson (1987), Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. J. Infect. Dis. 156: 183-88
39. Goosens, H.A.T., Bogaard, van den A.E., Nohlmans, M.K.E., (1999), Epstein-Barr Virus and Cytomegalovirus Infections cause false positive results in IgM two-test protocol for early Lyme-Borreliosis, Infection 27 No.3: 231
40. Burgdorfer, W., Barbour, A.G., Hayes S.F. et al. (1982), Lyme disease - a tick -borne spirochetosis?, Science 216:1317-19.
41. Steere, A.C. (1989), Lyme Disease, N. Engl. J. Med. 321:586-96.
42. Fingerle, V., Schulte-Spechtel, U.C., Ruzic-Sabljic, E., Leonhard, S., Hofmann, H., Weber, K., Pfister, K., Strle, F., Wilske, B. (2007) Epidemiological aspects and molecular characterization of *Borrelia burgdorferi* s.l. from southern Germany with special respect to the new species *Borrelia spielmanii* sp. nov. Int J Med Microbiol. 2008; 298(3-4): 279-90
43. Herzberger, P., Siegel, C., Skerka, C., Fingerle, V., Schulte-Spechtel, U., van Dam, A., Wilske, B., Brade, V., Zipfel, P.F., Wallich, R., Kraiczy, P. (2007) Human pathogenic *Borrelia spielmanii* sp. nov. resist complement-mediated killing by direct binding of immune regulators factor H and FHL-1. Infect Immun. 75(10): 4817-25
44. Wang, G., van Dam, A.P., Dankert, J. (1999) Phenotypic and genetic characterization of a novel *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolate from a patient with Lyme borreliosis. J Clin Microbiol 37: 3025-3028
45. Normenausschuss Medizin (NAMed) im DIN, DIN 58969-44, Medizinische Mikrobiologie-Serologische und molekularbiologische Diagnostik von Infektionskrankheiten –Teil44: Immunoblot (IB); Spezielle Anforderungen für den Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi*, Juli 2005, Beuth Verlag GmbH.
46. Grimm, D., Tilly, K., Byram, R., Stewart, P.E., Krum, J.G., Bueschel, D.M., Schwan, T.G., Policastro, P.F., Elias, A.F., Rosa, P.A. (2004) Outer-surface protein C of the Lyme disease spirochete: a protein induced in ticks for infection of mammals. Proc Natl Acad Sci U S A 101: 3142-3147

47. Tilly, K., Krum, J.G., Bestor, A., Jewett, M.W., Grimm, D., Bueschel, D., Byram, R., Dorward, D., Vanraden, M.J., Stewart, P., Rosa, P. (2006) *Borrelia burgdorferi* OspC protein required exclusively in a crucial early stage of mammalian infection. *Infect Immun* 74: 3554-3564
48. Xu, Q., Seemanapalli, S.V., McShan, K., Liang, F.T. (2006) Constitutive expression of outer surface protein C diminishes the ability of *Borrelia burgdorferi* to evade specific humoral immunity. *Infect Immun* 74: 5177-5184
49. Xu, Q., McShan, K., Liang, F.T. (2007a) Identification of an ospC operator critical for immune evasion of *Borrelia burgdorferi*. *Mol Microbiol* 64: 220-231
50. Tilly, K., Bestor, A., Jewett, M.W., Rosa, P. (2007) Rapid clearance of Lyme disease spirochetes lacking OspC from skin. *Infect Immun* 75: 1517-1519
51. Bankhead, T., Chaconas, G. (2007) The role of VlsE antigenic variation in the Lyme disease spirochete: persistence through a mechanism that differs from other pathogens. *Mol Microbiol.* 65(6): 1547-58
52. Bykowski, T., Babb, K., von Lackum, K., Riley, S.P., Norris, S.J., Stevenson, B. (2006) Transcriptional regulation of the *Borrelia burgdorferi* antigenically variable VlsE surface protein. *J Bacteriol* 188: 4879-4889
53. Norris, S.J. (2006) Antigenic variation with a twist - the *Borrelia* story. *Mol Microbiol* 60: 1319-1322
54. Nowalk et al. (2006), Serologic Proteome Analysis of *Borrelia burgdorferi* Membrane-Associated Proteins, *Infection and Immunity* 74, No.7: 3864-3873
55. Poggensee, G. et al (2008), Lyme.Borreliose: Forschungsbedarf und Forschungsansätze, *Bundesgesundheitsblatt* 50: 1329-1339

11. A teszt folyamatának vázlata

A teszt kivitelezésének rövid leírása:

Mintainkubáció	30 perc	15 µl páciensszérum/-plazma/100 µl kontroll tesztenként 1,5 ml hígító- /mosópufferrel
Mosás	3 x 5 perc	Tesztenként 1,5 ml hígító- /mosópufferrel
Konjugátum inkubáció	30 perc	1,5 ml munkaoldattal (1:100 hígított)
Mosás	3 x 5 perc 1 x 1 perc	Tesztenként 1,5 ml hígító- /mosópufferrel Desztillált / ioncserélt vízzel
Szubsztrátinkubáció	10 ± 3 perc	Tesztenként 1,5 ml szubsztrátoldattal
Leállítás	3 x, köztes inkubáció nélkül	Tesztenként 1,5 ml desztillált / ioncserélt vízzel

Táblázat: konjugátum munkaoldat hígítása (kerekítve)

Csíkok száma	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Hígító- /mosópuffer	1,5ml	3,0ml	4,5ml	6,0ml	7,5ml	9,0ml	11,0ml	12,0ml	14,0ml	15,0ml
Konjugátum koncentrárum	15µl	30µl	45µl	60µl	75µl	90µl	110µl	120µl	140µl	150µl
Végző térfogat	1,515ml	3,03ml	4,545ml	6,06ml	7,575ml	9,09ml	11,11ml	12,12ml	14,14ml	15,15ml

Csíkok száma	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Hígító- /mosópuffer	17,0ml	18,0ml	20,0ml	21,0ml	23,0ml	24,0ml	26,0ml	27,0ml	29,0ml	30,0ml
Konjugátum koncentrárum	170µl	180µl	200µl	210µl	230µl	240µl	260µl	270µl	290µl	300µl
Végző térfogat	17,17ml	18,18ml	20,2ml	21,21ml	23,23ml	24,24ml	26,26ml	27,27ml	29,29ml	30,3ml

Csíkok száma	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Hígító- /mosópuffer	32,0ml	33,0ml	35,0ml	36,0ml	38,0ml	39,0ml	41,0ml	42,0ml	44,0ml	45,0ml
Konjugátum koncentrárum	320µl	330µl	350µl	360µl	380µl	390µl	410µl	420µl	440µl	450µl
Végző térfogat	32,32ml	33,33ml	35,35ml	36,36ml	38,38ml	39,39ml	41,41ml	42,42ml	44,44ml	45,45ml

Csíkok száma	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Hígító- /mosópuffer	47,0ml	48,0ml	50,0ml	51,0ml	53,0ml	54,0ml	56,0ml	57,0ml	59,0ml	60,0ml
Konjugátum koncentrárum	470µl	480µl	500µl	510µl	530µl	540µl	560µl	570µl	590µl	600µl
Végző térfogat	47,47ml	48,48ml	50,5ml	51,51ml	53,53ml	54,54ml	56,56ml	57,57ml	59,59ml	60,6ml