

VIROTECH Helicobacter pylori IgG LINE Immunoblot

(H. pylori IgG LINE-32)

Užsakymo Nr.: WE243G32

(H. pylori IgG LINE-96)

Užsakymo Nr.: WE243G96

VIROTECH Helicobacter pylori IgA LINE Immunoblot

(H. pylori IgA LINE-32)

Užsakymo Nr.: WE243A32

(H. pylori IgA LINE-96)

Užsakymo Nr.: WE243A96

TIK IN VITRO DIAGNOSTIKAI

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

Tel.: +49(0)6074-23698-0

Fax.: +49(0)6074-23698-900

www.goldstandarddiagnostics.com



Turinys

1. Naudojimo paskirtis	3
2. Testo veikimo principas	3
3. Pakuotės turinys	3
3.1 Rinkinys 32 nustatymams	3
3.2 Rinkinys 96 nustatymams	3
4. Testavimo rinkinio ir reagentų laikymas ir tinkamumo laikas	3
5. Atsargumo priemonės ir įspėjamosios nuorodos	4
6. Papildomai reikalingos medžiagos (neįeina į tiekimo komplektaciją)	4
7. Tiriamoji medžiaga	4
8. Testo atlikimas.....	5
8.1 Mėginių paruošimas.....	5
8.2 Reagentų paruošimas.....	5
8.3 Imunobloto testo atlikimas.....	5
8.4 Imunobloto procesorių naudojimas.....	6
9. Testo vertinimas	6
9.1 Ribinės vertės kontrolės naudojimas	6
9.2 Antigenų reikšmė	6
9.3 Vertinimo kriterijai	7
9.4 Testo ribos	7
10. Literatūra	7
11. Testavimo schema	9

1. Naudojimo paskirtis

LINE testavimo rinkinys naudojamas kokybiniam *Helicobacter pylori* specifinių IgG ar IgA antikūnų įrodymui žmogaus serume.

2. Testo veikimo principas

Specialiu metodu ligos sukėlėjo antigeno proteinai užpurškiami ant nitroceliuliozės membranos. Tada nitroceliuliozės membrana supjaustoma atskiramis juostelėmis.

Inkubuojant antigenu padengtas nitroceliuliozės juosteles su žmogaus serumu (plazmos) mėginiais galima įrodyti specifinių antikūnų buvimą. Šie antikūnai sudaro imuninius kompleksus su ant testavimo juostelių fiksuotais antigenais. Plovimo etapais pašalinus nesurištus antikūnus, atskiros nitroceliuliozės juostelės su šarmine fosfataze konjuguotais prieš žmogų nukreiptais IgG ar IgA antikūnais inkubuojamos. Kito plovimo etapo metu pašalinus nesurištus konjuguotus antikūnus, antigeno-antikūno kompleksai (surišti antikūnai) padaromi matomais pridodant nedažyto substrato, kuris jo fermentinės reakcijos metu sudaro mėlynai violetines spektro juostas („antigenų spektro juostas“). Fermento (substrato) reakcija sustabdoma plaunant nitroceliuliozės juosteles dist. (dejonizuotu) vandeniu. Priklausomai nuo stebimos spektro juostų struktūros galima daryti išvadas apie specifinių IgG ar IgA antikūnų buvimą.

3. Pakuotės turinys

3.1 Rinkinys 32 nustatymams

1. IgG ar IgA nitroceliuliozės testavimo juostelės su užpurkštu antigenu, sustiprintos plėvele, surūšiuotos paketėliuose, paruoštos naudoti	1x	32 juostelės
2. IgG ar IgA ribinių verčių kontrolė , žmogaus serumas, praskiestas	1x	1,0 ml
3. Skiedimo (plovimo) buferis , pH 7,3 (10x konc.), su „Tris“ ir konservantu	2x	50 ml
4. IgG ar IgA konjugatas (100x konc.) prieš žmogų, (ožkos) šarminė fosfatazė, su konservantu	1x	0,7 ml
5. Substratas (BCIP/NBT), paruoštas naudoti	1x	57 ml
6. Vertinimo protokolo lapas rezultatams protokoluoti ir archyvuoti	1x	1 vnt.

3.2 Rinkinys 96 nustatymams

1. IgG ar IgA nitroceliuliozės testavimo juostelės su užpurkštu antigenu, sustiprintos plėvele, surūšiuotos paketėliuose, paruoštos naudoti	3x	32 juostelės
2. IgG ar IgA ribinių verčių kontrolė , žmogaus serumas, praskiestas	2x	1,0 ml
3. Skiedimo (plovimo) buferis , pH 7,3 (10x konc.), su „Tris“ ir konservantu	4x	50 ml
4. IgG ar IgA konjugatas (100x konc.) prieš žmogų, (ožkos) šarminė fosfatazė, su konservantu	3x	0,7 ml
5. Substratas (BCIP/NBT), paruoštas naudoti	3x	57 ml
6. Vertinimo protokolo lapas rezultatams protokoluoti ir archyvuoti	3x	1 vnt.

Pasiteiravus galima išgyti papildomai:

IgG ar IgA teigiama kontrolė, žmogaus serumas, praskiestas, 0,5 ml.

Teigiamos spektro juostos > ribinių verčių spektro juostas nurodytos kartu pristatomame sertifikate.

(Užsakymo Nr.: IgG: WE243P60 ar IgA: WE243P40)

IgG / IgA neigiama kontrolė, žmogaus serumas, praskiestas, 0,5 ml.

Neigiamos kontrolės nerodo jokių arba rodo netinkamas vertimai > ribines vertės spektro juostas.

(Užsak. Nr.: IgG/IgA: WE243N20)

4. Testavimo rinkinio ir reagentų laikymas ir tinkamumo laikas

Testavimo rinkinį laikyti 2–8 °C. Atskirų komponentų tinkamumo laikas nurodytas atitinkamoje etiketėje; rinkinio tinkamumo laiką žr. kokybės kontrolės sertifikate.

1. Atskirų reagentų negalima užšaldyti ir juos reikia saugoti nuo aukštos temperatūros poveikio.

2. Reagentų nenaudoti pasibaigus tinkamumo laikui.
3. Stenkitės nelaikyti reagentų skaisčioje šviesoje.
4. BCIP/ NBT substrato tirpalas yra jautrus šviesai ir jį reikia laikyti tamsioje.
5. **Nitroceliuliozės testavimo juostelės:** Išėmę iš maišelio juosteles tuojau pat naudokite. Maišelį su nereikalingomis juostelėmis vėl tvirtai uždarykite ir laikykite 2–8 °C temperatūroje. Rezultatų archyvavimui nitroceliuliozės testavimo juosteles, kad spektro juostos neišbluktų, būtinai reikia saugoti nuo tiesioginių saulės spindulių.

Medžiaga	Būsena	Laikymas	Tinkamumo laikas
Tiriamieji mėginiai	neskiesti	+2 iki +8 °C	1 savaitė
Testavimo juostelės	atidarius	+2 iki +8 °C (laikyti kartu tiekiamame maišelyje)	3 mėnesiai
Kontrolės	atidarius	+2 iki +8 °C	3 mėnesiai
Konjugatas	atidarius	+2 iki +8 °C	3 mėnesiai
	praskiestas	+2 iki +8 °C	apie 6 h
Substratas	atidarius	+2 iki +8 °C (tamsioje vietoje)	3 mėnesiai
Ploviklis	atidarius	+2 iki +8 °C (tamsioje vietoje)	3 mėnesiai
	galutinai praskiestas (paruoštas naudojimui)	+2 iki +8 °C	4 savaitės
	galutinai praskiestas (paruoštas naudojimui)	arba patalpų temperatūroje	2 savaitės

5. Atsargumo priemonės ir įspėjamosios nuorodos

7. Kaip kontroliniai serumai naudojami tik serumai, kurie buvo patikrinti ir diagnozuoti kaip neigiami HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK ir hepatito B paviršinio antigeno požiūriu. Nepaisant to, kontrolinius serumus, mėginius, atskiestus mėginius, konjugatus ir nitroceliuliozės juosteles reikia laikyti potencialiai infekcinėmis medžiagomis ir elgtis su jomis atitinkamai atsargiai. Galioja atitinkamos laboratorijos darbo taisyklės.
8. Atliekant imunobloto tyrimą reikia mūvėti vienkartines pirštines ir naudoti plastikinį pincetą.
9. Naudotos medžiagos utilizuojamos pagal šalyje galiojančias direktyvas.
10. Inkubavimo vonelės gamintojas numatė tik vienkartiniam naudojimui. Jeigu jos naudojamos pakartotinai, tai yra vien tik naudotojo atsakomybė. Jeigu jos būtų naudojamos keletą kartų, mes rekomenduojame inkubavimo vonelės po naudojimo keletą valandų dezinfekuoti 1 % natrio hipochlorido tirpale, išvalyti ir kruopščiai nuplauti vandentiekio vandeniu bei nuskalauti dist. (dejonizuotu) vandeniu.

6. Papildomai reikalingos medžiagos (neįeina į tiekimo komplektaciją)

1. Inkubavimo vonelė (prireikus galima įsigyti užsak. Nr. WE300.08)
2. Purtytuvas (vertikalus, ne centrifuginis)
3. Plovyklė sustabdymui
4. Pipetė arba rankinis plautuvas
5. 5 µl–1500 µl mikropipetės
6. Pipetės antgaliai
7. 2–20 ml tūrio mėgintuvėliai (vamzdiniai)
8. Plastikinis pincetas
9. Dist. arba dejonizuotas vanduo
10. Filtravimo popierius

7. Tiriamoji medžiaga

Kaip tiriamoji medžiaga gali būti naudojamas serumas ir plazma (čia antikoagulantų rūšis nėra svarbi), nors šiame informaciniame lapelyje ir kalbama tik apie serumą.

8. Testo atlikimas

Kad gautumėte teisingus rezultatus, būtinai tiksliai laikykitės „VIROTECH Diagnostics“ darbo taisyklių.

8.1 Mėginių paruošimas

1. Vienam paciento mėginiui reikia 15 µl serumo (plazmos) IgG tyrimui ir 30 µl serumo (plazmos) IgA tyrimui.
2. Kraujo mėginiai turi būti paimti iš venos aseptinėmis sąlygomis. Visiškai sukrešėjus reikia atskirti serumą (nereikia plazmos atveju). Ilgesniam laikymui serumus reikia užšaldyti -20 °C temperatūroje.
3. Stenkitės nešaldyti ir neatitirpinti serumų keletą kartų.
4. Karščiu išaktyvintų, lipeminių, hemolizuotų arba mikrobiologiškai užterštų serumų rezultatai gali būti neteisingi, todėl tokių serumų reikėtų nenaudoti.
5. Nenaudokite drumstų serumo mėginių (ypač atitirpintų), prireikus juos centrifuguokite (5 min prie 1000 x g), pipete surinkite skaidrų skystį viršuje ir naudokite testavimui.

8.2 Reagentų paruošimas

1. Taikantis prie laboratorijos rutinos visus LINE ir EcoBlots testus galima sujungti į vieną testavimo ciklą su vienoda inkubavimo trukme ir įvairių parametrų ir partijų komponentais. Ribinės vertės kontrolės naudojamos specifinės pagal parametrus ir partijas.
2. Prieš skieddami atitinkamus visų testavimo reagentų koncentratų sušildykite iki patalpų temperatūros. Naudokite tik aukštos kokybės ir patalpų temperatūros dist. (dejonizuotą) vandenį.
3. Prieš pradėdami testuoti skiedinius gerai išmaišykite.
4. **Skiedimo (plovimo) buferis**
Skiedimo (plovimo) buferis yra 10 kartų koncentruotas. Skiedimo (plovimo) buferio koncentratą 1:10 atskieskite distiliuotu arba dejonizuotu vandeniu (10 ml / 50 ml / 100 ml koncentrato + 90 ml / 450 ml / 900 ml dist. (dejonizuoto) v.), gerai sumaišykite.
Ir koncentruotas, ir praskiestas skiedimo (plovimo) buferis gali būti šiek tiek gelsvas. Ši gelsva spalva neturi jokios įtakos nei skiedimo (plovimo) buferio tinkamumo laikui, nei testavimo ciklo veikimui ir diagnostiniam patikimumui.
5. **IgG ar IgA konjugatas**
Konjugatą 1 + 100 praskieskite galutinai atskiestu skiedimo (plovimo) buferiu, gerai išmaišykite. Vienam serumo mėginiui reikia 1,5 ml paruošto naudoti konjugato tirpalo. Žr. konjugato skiedimo lentelę (punktą „Testavimo schema“).
6. **Substrato tirpalas**
Substrato tirpalas pristatomas paruoštas naudoti.

8.3 Imunobloto testo atlikimas

Dėmesio! Nitroceliuliozės testavimo juostelės galima tirti tik leistoje Ig klasėje
(žr. etiketę ant bloto paketėlio ir pažymėjimą ant kiekvienos atskiros bloto juostelės).

Kad „Helicobacter pylori LINE“ tyrimas būtų atliekamas ir įvertinamas teisingai, kiekviename testavimo cikle būtina kartu vykdyti ir parametrų ir partijai specifinę ribinių verčių kontrolę.

1. Testas atliekamas patalpų temperatūroje.
2. Kiekvienam mėginiui į švrios inkubavimo vonelės latakėlį įdėkite po 1 juostelę. Juostelės stenkitės imti tik už pažymėto viršutinio galo.
3. Pipete įlašinkite po 1,5 ml paruošto naudoti **skiedimo (plovimo) buferio** ir pastatykite ant purtytuvo. Atkreipkite dėmesį, kad nitroceliuliozės juostelės būtų tolygiai padengtos skysčiu, juostelės per visą testo atlikimo laiką turi neišdžiūti.
4. Sustiprintos nitroceliuliozės testavimo juostelės visiškai sudrėksta per vieną minutę ir gali būti inkubuojamos paguldytos ant nugarėlės, ant priekio arba ant šono.
5. Pipete įlašinkite po **15 µl paciento serumo (plazmos) IgG tyrimui ir 30 µl paciento serumo (plazmos) IgA tyrimui; ar 100 µl ribinių verčių / teigiamos / neigiamos kontrolės**, geriausia ties viršutiniu, pažymėtu juostelės galu. Pacientų serumą ir kontrolę **30 minučių** inkubuokite purtytuve. Lašindami pipete ir vėliau nupildami atkreipkite dėmesį, kad kryžmai neužkrėstumėte atskirų pacientų mėginių.

6. Išsiurbkite arba atsargiai išpilkite iš latakėlių visą skystį. Nupilant skystį nitroceliuliozės testavimo juostelės lieka prikibusios prie latakėlio dugno. Skysčio likučius atsargiai nulašinkite ant sugeriamojo popieriaus.
7. Juostelių **plovimas**: kiekvieną kartą su 1,5 ml paruošto naudoti skiedimo (plovimo) buferio **3 x 5 minutes** inkubuokite ant purtytuvo. Visada nusiurbkite arba nupilkite visą plovimo buferį. Prieš pasibaigiant paskutiniam plovimo etapui pasigaminkite reikalingą kiekį šviežio konjugato skiedinio (žr. lentelę).
8. Iš latakėlio išsiurbkite arba išpilkite visą skystį (žr. 6 punktą).
9. Pipete į atitinkamus inkubavimo latakėlius įlašinkite po 1,5 ml pasigaminto **konjugato skiedinio ir 30 minučių** inkubuokite ant purtytuvo.
10. Išsiurbkite arba išpilkite iš latakėlių visą skystį.
11. Juostelių **plovimas**: kiekvieną kartą su 1,5 ml paruošto naudoti skiedimo (plovimo) buferio **3 x 5 minutes** inkubuokite ant purtytuvo. Visada nusiurbkite arba nupilkite visą plovimo buferį. Po to **1 x 1 minutę** plaukite **dist. (dejonizuotu) vandeniu**.
12. Iš latakėlio išsiurbkite arba išpilkite visą skystį (žr. 6 punktą).
13. Pipete į latakėlius įlašinkite po 1,5 ml paruošto naudoti **substrato tirpalo** ir **10 ± 3 minutes** ryškinkite ant purtytuvo.
14. Spalvos ryškinimą **sustabdykite** nupildami substrato tirpalą. Po to juosteles be tarpinio inkubavimo **3 x** nuplaukite su po 1,5 ml **dist. (dejonizuoto) vandens**.
15. Nupilkite dist. (dejonizuotą) vandenį ir išdžiovinkite juosteles ant švaraus, gerai sugeriančio popieriaus. Foninė spalva, kuri gali matytis ant drėgnų nitroceliuliozės testavimo juostelių, juostelėms išdžiūvus visiškai pradingsta. Sustiprintos nitroceliuliozės testavimo juostelės džiūsta šiek tiek ilgiau nei įprastinės nitroceliuliozės testavimo juostelės.
16. Vertinimui naudokite pridėtą vertinimo protokolą. Sužymėjus labai specifines spektro juostas protokolo lape Jums bus daug lengviau įvertinti pacientų mėginius.

Testavimo schemą žr. paskutiniame puslapyje

8.4 Imunobloto procesorių naudojimas

Automatizuotam blotų ir LINE apdorojimui validuoti tokie prietaisai: „Apollo“ ir „Profilbot“. Principiniai tinkami naudoti yra visi įprastiniai blotų automatai.

9. Testo vertinimas

Patikimam vertinimui kiekvienai LINE juostelei numatytos dvi kontrolės:

1. **Serumo kontrolė** (= angl. *serum control*):

Tik inkubavus su paciento serumu po ženklavimo linija (= angl. *markline*) pasirodo serumo inkubacijos spektro juosta.

2. **Konjugato kontrolė** (= angl. *conjugate control*):

LINE juostelėje yra kontrolinė konjugato spektro juosta, kuri pasirodo po inkubavimo su atitinkamu konjugatu.

Testo atlikimas yra galiojantis, jeigu išryškintoje nitroceliuliozės testavimo juostelėje aiškiai matosi ir serumo kontrolė, ir vidinė konjugato kontrolė.

Kontrolinių serumo ir konjugato spektro juostų padėtis nurodyta protokolo lape.

9.1 Ribinės vertės kontrolės naudojimas

Spektro juostos, kurių intensyvumas mažesnis už ribinės vertės kontrolės ribinės vertės spektro juosta, nevertinamos.

IgG ir IgA ribinės vertės spektro juosta: Cag A

9.2 Antigenų reikšmė

Antigenas/ pavadinimas	Molekulinis svoris	Antigenų reikšmė	Antikūnų specifiškumas LINE tyrime	Būna su <i>H. pylori</i>
CagA (Cytotoxin- associated- gene A)	140 kD	CagA įterpiamas į šeimininko ląstelę ir tokiu būdu, be kitko, suardo rūgštį gaminančias skrandžio ląsteles. Tai savo ruožtu sudaro palankias sąlygas skrandžio opai arba skrandžio vėžiui vystytis.	Labai specifinis	I tipas

		Charakteringas ypatingai virulentiniams I tipo štamams, kai kuriuose mažiau virulentiniuose II tipo štamuose nėra. Labai imunogeninis		
VacA (Vacuolating Cytotoxin A)	87 kD	VacA išskiriamas į aplinkinę terpę, žaloja skrandžio gleivinės ląsteles ir veikia vietiniai imunosupresiniai (12). Charakteringas ypatingai virulentiniams I tipo štamams, kai kuriuose mažiau virulentiniuose II tipo štamuose nėra. Antikūnų atsakas, lyginant su CagA, ne toks tolygus	Labai specifinis	I tipas
p30	30 kD	Dar necharakterizuotas proteinas.	Labai specifinis	I tipas ir II tipas
UreA UreaseA Subvienetas	26 kD	Ureazė A neturi jokio panašumo su kitų organizmų ureazėmis, todėl yra labai specifinis <i>Helicobacter pylori</i> infekcijos žymuo.	Labai specifinis	I tipas ir II tipas
P25	25 kD	Membraninis baltymas, sudarantis galimybę <i>Helicobacter pylori</i> prisirišti prie skrandžio epitelio ląstelių (13).	Labai specifinis	I tipas ir II tipas
p19	19 kD	Kol kas dar tiksliau necharakterizuotas membraninis baltymas	Labai specifinis	I tipas ir II tipas

9.3 Vertinimo kriterijai

Interpretuojant serologinius rezultatus visada reikia atsižvelgti ir į bendrą klinikinį vaizdą, epidemiologinius duomenis ir kitų turimų laboratorinių tyrimų rezultatus.

Rekomenduojamas IgG, IgA įvertinimas

Pasirodanti (-čios) spektro juosta (-os)	Interpretavimas
Spektro juostų nėra arba yra tik viena tokia spektro juosta: p30, p19	neigiamas
Tik viena tokia spektro juosta: VacA, UreA, p25	įtartinas
CagA arba Pasirodo ≥ 2 tokios spektro juostos: VacA, p30, UreA, p25, p19	teigiamas

9.4 Testo ribos

1. Retais atvejais pacientų serumai gali rodyti „inversines“ spektro juostas (tamsus fonas, baltos juostos); jų vertinti negalima, t. y., tokiu atveju imunobloto įvertinti neįmanoma. Serumą reikėtų dar kartą patikrinti kitokiais serologiniais metodais.
2. Po sėkmingo gydymo IgA antikūnai gali persistuoti nuo 6 mėnesių iki 3 metų. IgG antikūnai paprastai persistuoja daug metų.

10. Literatūra

17. *Helicobacter pylori* – Von der Grundlage zur Therapie (1996) Herausgeber P. Malfertheiner, Thieme Verlag

18. Homepage, Nationales Referenzzentrum für *Helicobacter pylori*; Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Universität Freiburg (2010)
19. Zöller et al (1993) Nachweis der *Helicobacter pylori*-Infektion: Rolle der Immundiagnostik. *Klin. Lab.* 39: 45-54
20. Epidemiologisches Bulletin, 2005, Nr. 24
21. Kist M., Glocker E., Suerbaum S., Pathogenese, Diagnostik und Therapie der *Helicobacter-pylori*-Infektion, Bundesgesundheitsblatt, 2005
22. *Helicobacter-pylori* und gastroduodenale Ulkuskrankheit, AWMF-Leitlinien-Register, Nr. 021/001, 2008
23. Figura N., *Helicobacter* exotoxins and gastroduodenal diseases associated with cytotoxic strain infection, *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1996;10, Suppl. I : 79-96
24. Xiang Z., et al., Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin., *Infect. Immun.* 1995 Jan., 63 (1):94-98
25. Covacci A.S. et al., Molecular characterisation of the 128 kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *PNAS*, 1993, 90:5791
26. Cover T.L. et al., Serologic detection of infection with cagA + *Helicobacter pylori* strains, *J. Clin. Microbiol.*, 1995, 33 (6), 1496-1500
27. Weel J.F.L., The interrelationship between cytotoxin-associated gene A, vacuolating cytotoxin and *Helicobacter pylori*-related diseases, *JID*, 1996, 173: 1171-5
28. Gebert B. et al., The *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin: from cellular vacuolating to immunosuppressive activities, *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2004; 152(1): 205-220
29. Moran Anthony P. et al., In vivo expression of the 25-kDa laminin-binding protein of *Helicobacter pylori*, *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 43 (2005) 331-337

11. Testavimo schema

Testo atlikimas trumpai:

Mėginių inkubavimas	30 minučių	15 µl paciento serumo (plazmos) IgG tyrimui; 30 µl paciento serumo (plazmos) IgA tytimui / 100 µl kontrolėkiekvieną kartą 1,5 ml skiedimo (plovimo) buferio
Plovimas	3 x 5 minutes	Kiekvieną kartą su 1,5 ml skiedimo (plovimo) buferio
Konjugato inkubavimas	30 minučių	Su 1,5 ml paruošti naudoti skiedinio (1 + 100)
Plovimas	3 x 5 minutes 1 x 1 minutę	Kiekvieną kartą su 1,5 ml skiedimo (plovimo) buferio Su dist. (dejonizuotu) vandeniu
Substrato inkubavimas	10 ± 3 minučių	Kiekvieną su 1,5 ml substrato tirpalo
Fiksavimas	3 x be tarpinio inkubavimo	Kiekvieną kartą su 1,5 ml dist. (dejonizuoto) vandens

Konjugato skiedimo lentelė: (suapvalinta)

Juostelių skaičius	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Skiedimo (plovimo) buferis	1,5ml	3,0ml	4,5ml	6,0ml	7,5ml	9,0ml	11,0ml	12,0ml	14,0ml	15,0ml
Konjugato koncentratas	15 µl	30 µl	45 µl	60 µl	75 µl	90 µl	110 µl	120 µl	140 µl	150 µl
Galutinis tūris	1,515ml	3,03ml	4,545ml	6,06ml	7,575ml	9,09ml	11,11ml	12,12ml	14,14ml	15,15ml

Juostelių skaičius	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Skiedimo (plovimo) buferis	17,0ml	18,0ml	20,0ml	21,0ml	23,0ml	24,0ml	26,0ml	27,0ml	29,0ml	30,0ml
Konjugato koncentratas	170 µl	180 µl	200 µl	210 µl	230 µl	240 µl	260 µl	270 µl	290 µl	300 µl
Galutinis tūris	17,17ml	18,18ml	20,2ml	21,21ml	23,23ml	24,24ml	26,26ml	27,27ml	29,29ml	30,3ml

Juostelių skaičius	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Skiedimo (plovimo) buferis	32,0ml	33,0ml	35,0ml	36,0ml	38,0ml	39,0ml	41,0ml	42,0ml	44,0ml	45,0ml
Konjugato koncentratas	320 µl	330 µl	350 µl	360 µl	380 µl	390 µl	410 µl	420 µl	440 µl	450 µl
Galutinis tūris	32,32ml	33,33ml	35,35ml	36,36ml	38,38ml	39,39ml	41,41ml	42,42ml	44,44ml	45,45ml

Juostelių skaičius	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Skiedimo (plovimo) buferis	47,0ml	48,0ml	50,0ml	51,0ml	53,0ml	54,0ml	56,0ml	57,0ml	59,0ml	60,0ml
Konjugato koncentratas	470 µl	480 µl	500 µl	510 µl	530 µl	540 µl	560 µl	570 µl	590 µl	600 µl
Galutinis tūris	47,47ml	48,48ml	50,5ml	51,51ml	53,53ml	54,54ml	56,56ml	57,57ml	59,59ml	60,6 ml