

Primero, determinar el número de pocillos a utilizar:

Dos pocillos para el control negativo.

Dos pocillos para el Reactivo de control de lisado.

Dos pocillos para cada muestra de paciente a testar (pre, post, actual, etc.)

1. Cálculos para determinar el número total de pocillos utilizados para Clase I o Clase II:

$$\frac{4}{\text{(Pocillos control)}} + \frac{\quad}{\text{(Pocillos paciente)}} + \frac{2}{\text{(Perdidas pipeteo)}} = \frac{\quad}{\text{(Pocillos Totales)}} \times \frac{15 \mu\text{L}}{\text{(Vol/pocillo)}} = \frac{\quad \mu\text{L (a)}}{\text{(Vol. Lisado dil. necesario)}}$$

Seguidamente, calcular la cantidad de lisado sin diluir necesario:

2. Cálculos para determinar el volumen total de lisado no diluido necesario para tiras de Clase I:

Dividir el volumen total de lisado diluido por 8 para determinar la cantidad de lisado necesario para tiras de Clase I

$$\frac{\quad \mu\text{L (a)}}{\text{(Vol. Lisado dil. necesario)}} \div \frac{8}{\text{(Dilución Clase I)}} = \frac{\quad \mu\text{L (b)}}{\text{(Vol. Lisado No diluido Necesario para tiras Clase I)}}$$

3. Cálculos para determinar el volumen total de lisado no diluido necesario para tiras de Clase II:

Dividir el volumen total de lisado diluido por 4 para determinar cantidad de lisado necesario para tiras de Clase II

$$\frac{\quad \mu\text{L (a)}}{\text{(Vol. Lisado dil. necesario)}} \div \frac{4}{\text{(Dilución Clase II)}} = \frac{\quad \mu\text{L (c)}}{\text{(Vol. Lisado No diluido Necesario tiras Clase II)}}$$

4. Cálculos para determinar el volumen total de lisado para tiras de Clase I y de Clase II:

Añadir el volumen de lisado no diluido de Clase I al volumen necesario de Clase II para determinar el volumen total de lisado no diluido necesario.

$$\frac{\quad \mu\text{L (b)}}{\text{(Clase I)}} + \frac{\quad \mu\text{L (c)}}{\text{(Clase II)}} = \frac{\quad \mu\text{L (d)}}{\text{(Vol Total Lisado No diluido Necesario)}}$$

5. A partir del volumen total de lisado no diluido necesario, calcular el volumen de células concentradas que se debe preparar:

$$\frac{\quad \mu\text{L (d)}}{\text{(Vol lisado No diluido necesario)}} \div \frac{10}{\text{(Dilución lisis)}} = \frac{\quad \mu\text{L (e)}}{\text{(}\mu\text{L linfocitos concentrados)}}$$

Nota: Con 30 μL de células concentradas o aproximadamente 90 x 10⁶ células, se obtiene suficiente lisado para testar 20 muestras de pacientes por duplicado para la reactividad de Clase I y de Clase II

Con 10 μL de células concentradas o aproximadamente 30 x 10⁶ células, se obtiene suficiente lisado para testar 20 muestras de pacientes por duplicado para la reactividad de Clase I.

Con 20 μL de células concentradas o aproximadamente 60 x 10⁶ células, se obtiene suficiente lisado para testar 20 muestras de pacientes por duplicado para la reactividad de Clase II.

Anotación de las diluciones:

Volumen de células concentradas usado **(e)** _____

Volumen de Tampón de lisis de linfocitos diluido añadido _____ (100 μL / 10 μL volumen células concentradas)

Anotación Dilución Lisado Clase I:

Volumen Total Lisado Diluido Clase I **(a)** _____

Volumen Total Lisado sin diluir utilizado **(b)** _____

Volumen LCD usado **(a-b)** _____

Anotación Dilución Lisado Clase II:

Volumen Total Lisado Diluido Clase II **(a)** _____

Volumen Total Lisado sin diluir utilizado **(c)** _____

Volumen LCD usado **(a-c)** _____