

ECHINOCOCCUS

CE

Western Blot IgG



In vitro dijagnostički imunoblot test

Poluautomatizirana / ručna metoda

#ECH-WB24G: 24 testova

#ECH-WB12G: 12 testova

#ECH-WB96G: 96 testova

UPUTE ZA UPOTREBU

Više informacija i Upute za upotrebu na vašem jeziku potražite na našoj web stranici

www.ldbi迪agnostics.com

NAMJENA

ECHINOCOCCUS Western Blot (WB) IgG je jednokratan upotreba kvalitativan test serološke dijagnostike IgG pomoću imunoblot testa za alveolarnu ehinokokozu i hidatiduzu namijenjenog za potvrđno ispitivanje pozitivnog ili dvostrukog rezultata dobivenog klasičnim testovima probira.

PRINCIP TESTA

Western Blot tehnika

Antigeni *Echinococcus multilocularis* larvi, jednom odvojeni elektroforezom, vezani su elektroblotingom na površinu nitrocelulozne membrane (koja se naziva prijenos) izrezana na 24 trake označene brojevima od 1 do 24.

Provođenje ispitivanja

Svaki uzorak koji se ispituje odvojeno je inkubiran s trakom. Specifična antitijela koja su potencijalno prisutna u uzorku selektivno se vežu na antigene. Alkalna fosfataza-anti-ljudski IgG konjugat se zatim veže na vezana antitijela. Konačno, imunokompleksi reagiraju s supstratom. Antigeni koje prepoznaju specifična antitijela tipa IgG prisutna u uzorcima se prikazuju kao ljubičaste transverzalne trake.

REAGENSI UKLJUČENI

Normalan: pakiranje od 24 testova (#ECH-WB24G)

italic: pakiranje od 12 testova (#ECH-WB12G) - **bold:** Pakiranje od 96 testova (#ECH-WB96G).

ID	Kol.	Opis	Sastav
R1	1	Mape od 24 (12, 4x24) STRIPOVI: standardni + obojani standardi. (Svaka mapa i svaki prijenos identificira se jedinstvenim serijskim brojem)	Senzitizirana nitroceluloza. Molekularna težina u boji (kDa): Plava: 250, plava: 150, Plava: 100, Ružičasta: 75, Plava: 50, Zelena: 37, Ružičasta: 25, Plava: 20, Plava: 15, Žuta: 10.
R2	1	Bočica od 30 (30, 125) ml PUFERA ZA UZORAK (spremna za upotrebu - ružičasta otopina).	Pufer + surfaktant.
R3	1	Bočica (e) od 30 (30, 2x60) ml ANTI IgG KONJUGAT (spremna za upotrebu - plava otopina).	Pufer + anti-human IgG poliklonalni kozji serum konjugiran s alkalnom fosfatazom + NaN3 (<0.1%) + stabilizatori.
R5	1	Bočica od 30 (30, 125) ml SUBSTRATA (Spreman za upotrebu - neprozirna smeđa bočica).	Pufer + NBT + BCIP + stabilizatori.
R6	1	Bočica od 60 (60, 250) ml WASH CONCENTRATE 10X PUFER (Razrijediti 10 puta u destiliranoj vodi - bezbojna otopina).	Pufer + surfaktant.
R10	1	Epruveta od 200 (200, 2x200) µl POZITIVNOG KONTROLNOG SERUMA (Spreman za uporabu - crvena kapa).	Pufer + bazen humanog seruma pozitivan u <i>E. multilocularis</i> serologiji + NaN3 (<0,1%) + stabilizatori.

R1: Slovo prije svakog broja trake specifično je za parametar.

R2, R3, R5 i R6 zajednički su za sve kitove i imaju jedinstveni serijski broj koji ovisi samo o datumu njihove proizvodnje. Preporučuje se provođenje višparametarskog ispitivanja (vidi LDBIO raspon imunoblotova) kako bi se ograničio broj otvorenih bočica i kako bi se osigurala bolja kontrola kvalitete.

R10 je kalibriran u imunoblotu prema referentnoj partiji i posvećen je samo ovoj tehnici.

R3, R10 (NaN3): EUH 032 - U dodiru s kiselinama oslobađa vrlo otrovni plin.

EUH 210 Sigurnosno-tehnički list dostupan na zahtjev i na našoj web stranici www.idbidiagnostics.com.

POTREBNI DODATNI MATERIAL KOJI NIJE UKLJUČEN

- Višekanalne polipropilenske inkubacijske posude za mini-mrlje (# WBPP-08 ili ekvivalent).
- Platforma za ljuljanje za imunoblokove, vakuumski sustav za tekućine (kade # WBPP-08 koje isporučujemo mogu se isprazniti jednostavnim okretanjem).
- Cijevi i materijal za crtanje uzoraka, stupnjeviti cilindri, prilagođeni spremnici. Automatske pipete, mikropipete i vrhovi za jednokratnu uporabu (volumeni od 25 µl, 1,2 ml i 2 ml).
- Destilirana ili deionizirana voda. Upijajući papir (npr. Whatman filter papir), prozirna ljepljiva traka.
- Rukavice, pincete za rukovanje trakama, rezačem ili skalpelom, ravnim transparentnim ravnilom.

Napomena: Naši reagensi mogu se koristiti u automatiziranom imunoblot procesoru. **Treba paziti na moguće kemijske kontaminacije naših reagensa ako se procesor dijeli s reagensima drugog proizvođača** (poznati primjer: kontaminacija TWEEN-om 20) i bakterijske kontaminacije. Rezervirajte bočice za procesor. Nakon obrade ne stavlajte preostale korištene reagense natrag u originalne bočice.

SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Skladištiti između 2 i 8 ° C. Reagensi iz kita stabilni su do isteka roka valjanosti naznačenog na vanjskoj kutiji i naljepnicama bočice. Ne koristite kontaminirani ili mutni reagens. Pufer za ispiranje razrijeđen do 1/10 stabilan je 2 mjeseca na +2 do +8 ° C i jedan tjedan na sobnoj temperaturi.

MJEE OPREZA PRILIKOM UPOTREBE

Sigurnost

- Samo za *in vitro* uporabu. Samo za profesionalnu upotrebu. Samo za tehnički sposobljeno osoblje. Rukovati u skladu s dobrom laboratorijskom praksom i smatrati svaki reagens i bilo koji uzorak potencijalno toksičnim i / ili zaraznim.
- Nosite laboratorijsku odjeću, rukavice i naočale; nemojte piti, jesti ili pušiti u laboratoriju. Ne stavlajte pipete u usta.
- Pozitivna kontrola je serum ljudskog podrijetla koji je inaktiviran za viruse HIV 1 i 2, hepatitis B i hepatitis C. Njime se mora rukovati kao s potencijalno zaraznim proizvodom.
- Supstrat sadrži mješavinu NBT-a i BCIP-a, toksičnog za kontakt (koža i sluznice) i inhalacija.
- Reagensi sadrže natrijev azid koji može tvoriti eksplozivne metalne soli s olovom i bakrom. Isprati prosuto vodom.
- Odložite otpad (uzorke, vrhove, epruvete, tekućinu za pranje, korišteni reagens ...) u skladu s dobrom praksom u industriji i važećim propisima u zemlji.
- Svaki ozbiljni incident mora biti predmet prijave proizvođača i nadležnog tijela.

Mjere opreza

- Očitajte i protumačite rezultate pod izravnim bijelim svjetлом.
- Poželjno je koristiti sve reagense iz iste serije. Ako se koriste različite serije, osigurati sljedivost.
- Koristite trake u brojčanom redoslijedu. Nemojte miješati trake s različitim serijskim brojevima; koristiti prijenose uzastopce. Uspostavite poseban plan distribucije prije početka ispitivanja.
- Nemojte dodirivati trake prstima; koristite pincete.
- Reagensi se prije uporabe moraju dobro izmiješati, osobito koncentrirani pufer za ispiranje.
- Nakon upotrebe zatvorite bočice; nemojte koristiti ako je tvar slučajno uvedena u reagense. Ne koristite reagens iz bočice koja pokazuje znakove curenja. Nemojte koristiti mutnu ili istaloženu otopinu.
- Koristite samo vrhove pipeta za jednokratnu uporabu. Izbjegavajte kontaminaciju među kanalima. Pazite na stvaranje pjene ili mjehurića u vrhovima pipeta (bakterijska kontaminacija bočica s reagensima).
- Inkubacijske posude čistite samo destiliranom vodom (nikada nemojte koristiti deterdžent ili izbjeljivač).
- Izostavljanje uzorka ili raspodjela neadekvatne količine može dovesti do negativan ili pozitivan testa, bez obzira na njegov stvarni status.

UZORKOVANJE

Aseptički skupite uzorke u suhe epruvete. Potrebno je najmanje 25 µl seruma.

Skladištite uzorke na 2-8 ° C dok se ne obrade. Ako moraju biti skladišteni duže od tjedan dana, potrebno je smrznuti uzorke na -20 ± 5 ° C. Nemojte koristiti kontaminirani uzorak. Izbjegavajte zamrzavanje i odmrzavanje uzorka više puta.

Iako nije primjećena posebna unakrsna reakcija s hemoliziranim, ikteričnim ili lipemičnim serumima, preporuča se pažljivo tumačiti rezultate korištenja takvih uzoraka.

PRIPREMA REAGENSA

Pufer za ispiranje: Za 4 testa, u čistoj bočici, razrijedite 10 ml koncentrata za pranje 10X (**R6**) u 90 ml destilirane ili deionizirane vode. Pazite da dobro promiješate razrijeđeni pufer.

POSTUPAK

Napomena: Preporučuje se provođenje višeparametarskog ispitivanja (vidi LDBIO raspon imunoblotova) kako bi se ograničio broj otvorenih bočica i kako bi se osigurala bolja kontrola kvalitete.

1. Pripremite plan raspodjele uzoraka i C + pozitivnu kontrolu (**R10**).

Samo uporabom ove kontrole može se tehnički potvrditi ispitivanje i utvrditi za dani serijski broj, razvijene specifične trake. C + traka se ne može koristiti za interpretaciju rezultata traka iz mrlje drugog serijskog broja.

2. Izrežite potreban broj traka (R1) pomoću skalpela i čistog i suhog ravnog prozirnog ravnala, držeći plavu crtu za pozicioniranje na trakama: držite trake čvrsto na mjestu s ravnalom i izrežite ih na strani naprezanja (brojevi su vidljivi kroz ravnalo).
3. Ispipetirati 1,2 ml uzorka pufera (R2) u svakom kanalu prema utvrđenom planu.
4. U brojčanom redoslijedu položite numerirane trake u kanale: pustite da se trake rehidriraju na površini pufera približno 2 minute s brojem vidljivim na vrhu, a ZATIM lagano protresite pladanj da biste ga u potpunosti uronili.
5. Podijelite uzorce i pozitivnu (e) kontrolu (e): prema planu distribucije, brzinom od 25 µl po kanalu. Nježno protresite posudu nakon svakog doziranja. Stavite podložak na platformu za lJuljanje. **Inkubirajte 90 min ± 5 min na 20-26 °C.**
6. Korak ispiranja: Ispraznite sadržaj kanala pomoću Pasteurove pipete ili okrećite ladicu za inkubaciju. U svaki kanal dodajte 2 do 3 ml razrijeđenog pufera za ispiranje. Inkubirajte na platformi za lJuljanje 3 minute. Ponovite 2 puta, a zatim ispraznite sadržaj kanala. Osigurajte da se trake ne okreću tijekom ovih koraka.
7. Ispipetirati 1.2 ml anti-IgG konjugata (R3) u svaki kanal. Postavite pliticu na platformu za lJuljanje. **Inkubirajte 60 min ± 5 min na 20-26 °C**
8. Korak ispiranja: ponoviti korak 6
9. Ispipetirati 1.2 ml NBT / BCIP supstrata (R5) u svaki od kanala. Stavite na platformu za lJuljanje i zaštitite je od izravnog svjetla. **Inkubirajte 60 min ± 5 min na 20-26 °C**

Bez obzira na parametar, pratite razvoj boje. Razvoj se može zaustaviti ako boja pozadine trake potamni do točke gdje je čitanje teško (kvaliteta koraka ispiranja ima temeljni utjecaj na boju pozadine). Imajte na umu da će se trake osvjetljavati dok se suše.

10. Zaustavite reakciju aspiriranjem supstrata s Pasteurovom pipetom ili okretanjem inkubacijske posude i ispuštanjem 2 ml destilirane vode u kanale. Ponovite ovaj zadnji korak pranja još jednom.
11. Sušenje trakica: Dok su kanali još uvijek napunjeni vodom, pomoću pinceta izvadite trake na numeriranom kraju i pohranite ih, s vidljivim brojem na Whatmanov upijajući papir. Neka se osuši na zraku. Boja traka prirodno će se olakšati tijekom sušenja. Tumačenje se mora obaviti samo nakon završetka sušenja.
12. Skladištenje: Trake prenesite na list papira koji će se koristiti za njihovo arhiviranje. Poravnajte linije pozicioniranja. Držeći ih na mjestu s ravnalom zlijepite vrh traka transparentnom ljepljivom trakom.

Za dobru interpretaciju trake moraju biti poredane po prijenosu i numeričkim redoslijedom, razmaknute u razmaku od najviše nekoliko milimetara. Nije pouzdano uspoređivati trake koje su udaljene jedna od druge (npr. Br.2 s br. 15). **Opasno je** (lažni rezultati) usporediti trake od različitih kompleta (trake s različitim serijskim brojevima).

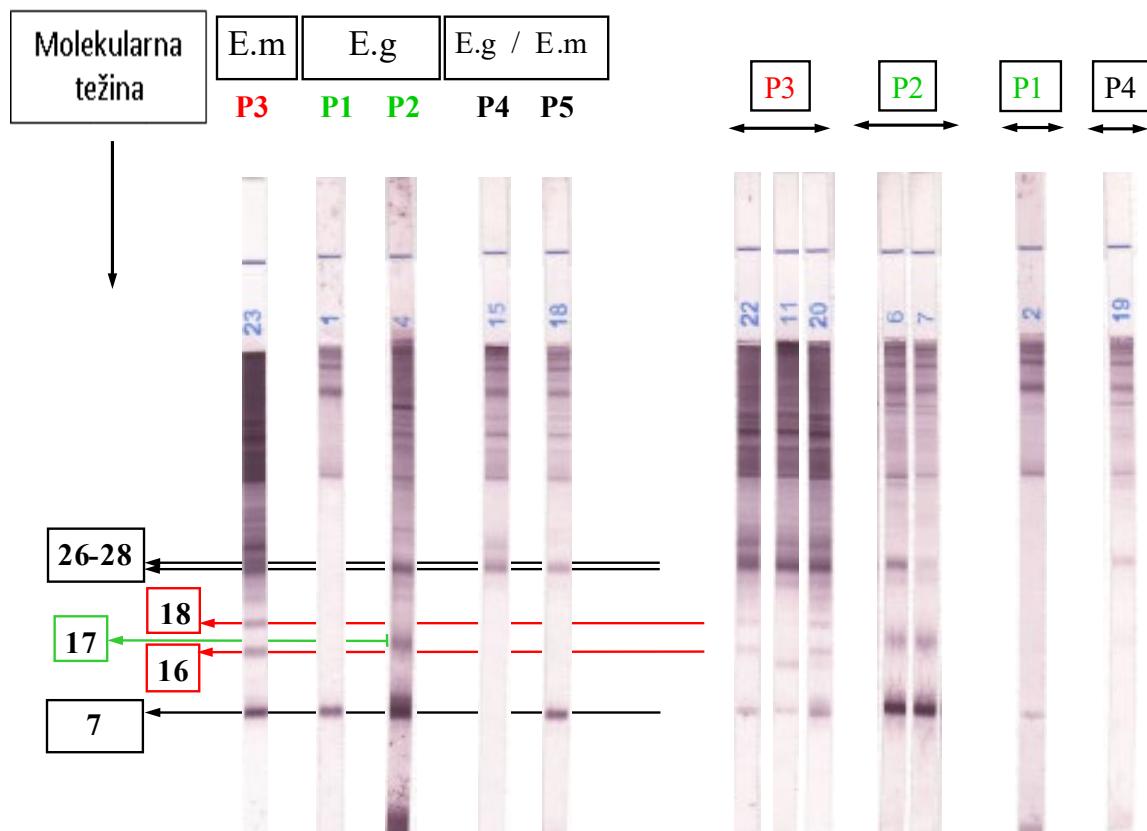
KONTROLA KVALITETE I INTERPRETACIJA

Kontrola seruma (R10) iz kita se mora sustavno uključiti u bilo koju seriju imunoblotova. Prikazuje tipičan profil i omogućuje tehničku validaciju dobrog vođenja testa (trake moraju biti vrlo jasno prikazane na traci) i precizno kalibrirati položaj i aspekt specifičnih traka kako bi se omogućilo tumačenje rezultata traka od isti prijenos (isti serijski broj).

Nota Bene: Profil pozitivne kontrole (R10) može se razlikovati ovisno o broju serije korištenih reagensa. Odgovarajuće slike dostupne su na našoj web stranici www.ldbiagnostics.com kao primjer.

Opis traka

- Područje čitanja nalazi se na donjoj polovici trake, između 7 i 26-28 kDa. Traka od 26-28 kDa nazvana je tako zato što se može prikazati u različitim aspektima: jedan uski pojas (26 ili 28 kDa), dvostruki pojas (26 i 28 kDa) ili veliki pojas koji pokriva cijelo područje od 26 do 28 kDa ,
- Za dijagnosticiranje roda *Echinococcus* koriste se ekstremne trake od 7 i 26-28 kDa (vidi dolje: Interpretacija I).
- Srednje trake, smještene između 7 i 26-28 kDa, koriste se, kada su prisutne, za dijagnosticiranje vrste *granulosus* ili *multilocularis* (vidi dolje: Interpretacija II)



Slika 1: Primjeri pozitivnih i negativnih rezultata

Profil su dati kao primjeri. Trake su označene slovom "D" specifičnim za parametar iz serije "03023".

Interpretacija

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> Determinacija roda: <ul style="list-style-type: none"> - Prisutnost ekstremnih 7 <u>j</u>ili 26-28 kDa traka Determinacija vrste: <ul style="list-style-type: none"> - Profil P1 ili P2: <i>Echinococcus granulosus</i> (E.g) - Profil P3: <i>Echinococcus multilocularis</i> (E.m) - Profil P4 ili P5: <i>E. multilocularis</i> or <i>E. granulosus</i> |
|---|

Interpretacija I determinacija roda *Echinococcus*:

Potražite prisutnost 7 i / ili 26-28 kDa traka za svaki od uzoraka testiranih s gore opisanim kalibracijskim alatima (te su trake tipične i općenito vrlo lako locirane).

Prisutnost ekstremnih 7 i / ili 26-28 kDa traka potrebna je za interpretaciju testa kao pozitivnog i za zaključak da su anti-*Echinococcus* IgG antitijela prisutna u testiranom uzorku.

Interpretacija II diferencijalna determinacija vrste *E. granulosus* spram *E. multilocularis*:

To se postiže traženjem specifičnih traka jedne ili druge vrste u međupodručju između 7 i 26 kDa.

- Trake zajedničke za obje vrste: 12, 15, 20, 24 kDa
- Uske trake pronađene su samo kod *E. multilocularis*: 16, 17, 18 kDa
- Traka se nalazi samo kod *E. granulosus*: veliki difuzni pojas na 17 kDa.

Moguće je pronaći 5 različitih profila.

- Profili P1, P2 i P3 (nađeni u 70% slučajeva) determiniraju vrstu:

PROFIL P1: Izolirana samo 7 kDa traka.	<i>Echinococcus granulosus</i>
PROFIL P2: 7 kDa traka + velika difuzna 17 kDa traka. (NB: 26-28 kDa traka je vrlo često prisutna.)	<i>Echinococcus granulosus</i>
PROFIL P3: 26-28 traka + uska 16 i/ili 18 kDa traka. (NB: većina ostalih 7, 12, 15, 17, 20 ili 24 kDa traka su Vrlo često isto prisutne.)	<i>Echinococcus multilocularis</i>

- Posljednja 2 profila, P4 i P5 (pronađena u 30% slučajeva), ne razlikuju dvije vrste *E. granulosus* i *E. multilocularis*.

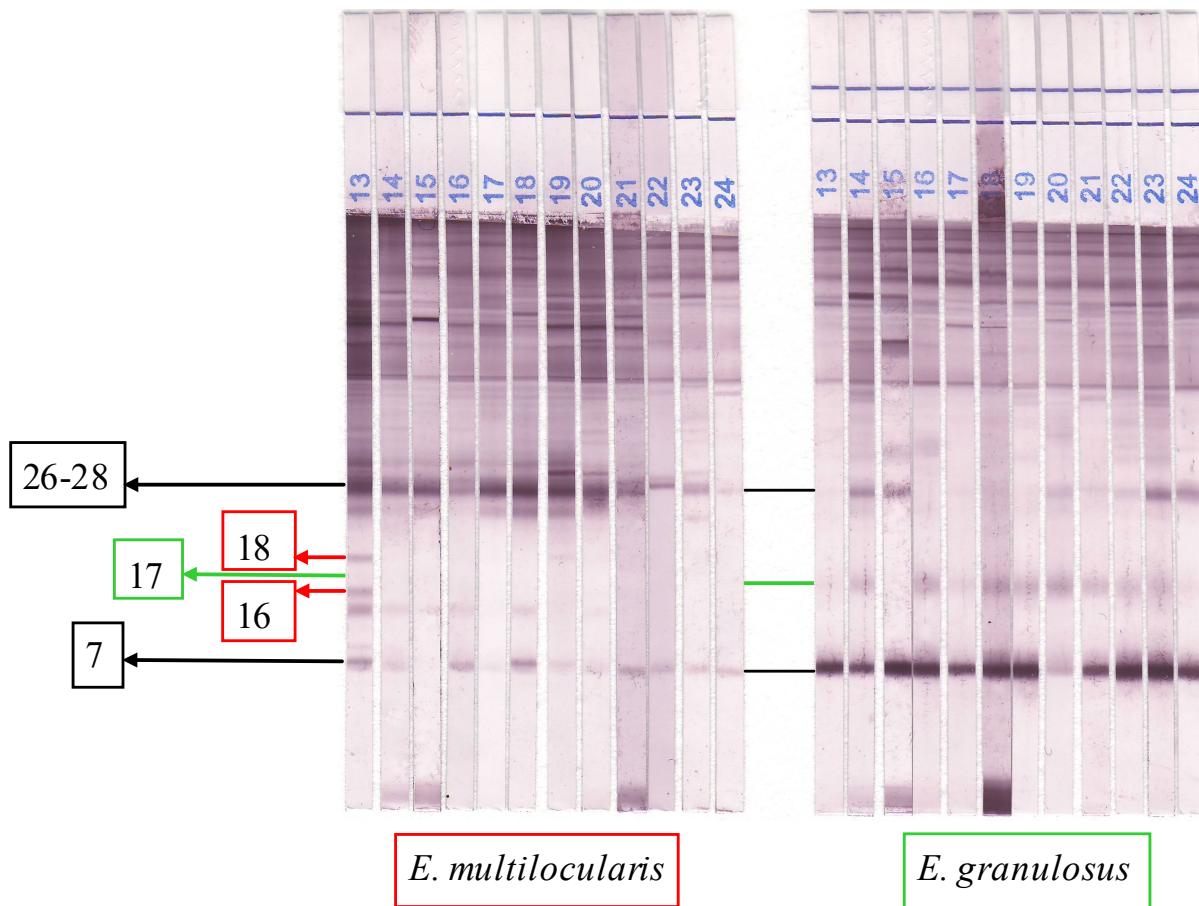
PROFIL P4: Izolirana samo 26-28 kDa traka.	BEZ srednje trake
PROFIL P5: povezivanje 7 + 26-28 kDa traka	BEZ srednje trake

Napomena 1: Izolirana prisutnost jednog ili više intermedijarnih traka (12, 15, 16, 17, 18, 20 ili 24 kDa) ne može se smatrati specifičnim. Ove trake nikada nisu pronađene izolirane u slučaju ehnokokoze, ali su uvijek povezane s 7 kDa i / ili 26-28 kDa trakama.

Napomena 2: Vrpce iznad i, rjeđe ispod 7-28 kDa područja su vrlo često prisutne. Ne smiju se koristiti za tumačenje testa.

Napomena 3: Iznimno, traka od 16 kDa pojavila se veća od normalne u pacijenta inficiranog s *E. multilocularis*. Pazite da ne zbulinite ovaj pojas s velikom trakom od 17 kDa koja je specifična za *E. granulosus*.

Napomena 4: Srednje trake su manje intenzivne od traka 7 i 26-28 kDa. Pravilno razvijanje često zahtijeva inkubaciju u supstratu tijekom 60 minuta. Ne prekidajte ga prerano.



Slika 2: Dodatni primjeri pozitivnih imunoblot uzoraka koji dolaze od pacijenata inficiranih s *E. multilocularis* i *E. granulosus*.

Profili su dati kao primjeri. Trake su označene slovom "D" specifičnim za parametar iz serije "03023".

Ti su uzorci posebno odabrani da budu slabo pozitivni: svi profili *E.m* su nepotpuni (osim prve trake, br. 13).

Zanimljivo je primijetiti protivljenje profila koji se obično nalaze za svaku vrstu:

E. multilocularis: Traka od 26-28 kDa često se pojavljuje u obliku dvostrukih traka i najintenzivniji je.

E. granulosus : obrnuto, najintenzivnija je traka 7 kDa.

Ali to pravilo nije apsolutno (npr., *E. m* traka br. 24 - *E. g* traka br. 20)

Da bi se potvrdili rezultati, uvijek usporedite profil imunoblot-a svakog uzorka s profilom pozitivne kontrole R10. Aspekt bendova je važan pri tumačenju testa.

OGRANIČENJA

- Dijagnoza zarazne bolesti se ne može utvrditi na temelju jednog rezultata testa.
- Serološki rezultati se moraju tumačiti u skladu s dostupnim informacijama kako bi se uspostavila dijagnoza (npr. epidemiologija, klinička slika, slika, biologija itd.). Ne smiju se koristiti za postavljanje dijagnoze samo na temelju njihove pozitivnosti.

IZVEDBA (VIDI REFERENCE IZ LITERATURE)

Osjetljivost (Se)

Multicentrična studija provedena u dva neovisna specijalizirana laboratorijska koja obuhvaća 111 seruma bolesnika (50 slučajeva hidatidoze i 61 slučaj alveolarne ehinokokoze identificiranih sa sigurnošću), dala je sljedeće rezultate:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: dobiveni profili					
	Neg	P1	P2	P3	P4	P5
Hidatidoza (n=50)	1	12	22	0	1	14
Alveolarna ehinokokoza (n=61)	2	0	0	41	7	11
Ukupno (n=111)	3	12	22	41	8	25

Tablica 1: Osjetljivost testa i dobiveni profili

Osjetljivost testa :

Se = 97.3% u odnosu na rod *Echinococcus*

Se = 98% u odnosu na vrstu *E. granulosus*

Se = 96.7 % u odnosu na vrstu *E. multilocularis*

Dijagnoza vrste: *E. granulosus* spram *E. multilocularis*

Tablica 1 iznad dopušta izračunavanje sposobnosti razlikovanja između dvije vrste od **67.6%** (P1 + P2 + P3 profili).

Specifičnost (Sp) - Križne reakcije

147 uzoraka seruma, koji odgovaraju 147 bolesnicima, testirani su sa **ECHINOCOCCUS WB IgG** kitom iz prethodna dva laboratorijska.

Serumi pacijenata koji pate od sljedećih su: neuro-cisticeroza *Taenia solium* (42), *Schistosoma* (42), *Fasciola hepatica* (10), *Loa loa* (6), *Trichinella spiralis* (6), *Toxocara canis* (6), *Strongyloides stercoralis* (4), *Entamoeba histolytica* (4), *Leishmania infantum* (4), *Plasmodium falciparum* (3) i slijedeće autoimune bolesti: RF reumatoidni faktor (8), ANA Anti-nuklearna protutijela (12).

139 seruma su negativni, što pokazuje **94.6% specifičnosti** u ovoj populaciji.

8 križnih reakcija su isključivo opažene kod:

- cisticeroze: prisutnost izolirane trake 7 kDa kod 5/42 pacijenta.
- Autoimmune bolesti: prisutnost izolirane uske trake od 28 kDa kod 1/8 pacijenta (FR+) i 2/12 ANA+ pacijenta.

NB: fasciozoa: prisutnost izolirane vrlo velike trake (25-30 kDa) nađene kod 4/10 testiranih pacijenata, ali se ne smije zamjeniti sa specifičnom 26-28 trakom.

Zaključak

Korelacija između WB Echinococcus i kliničkog statusa je izvrsna.

Osjetljivost Se = 97.3% [CI95 91,7 – 99.3%]

Specifičnost Sp = 94.6% [CI95 89,2 – 97.4%]

Uz to, Svjetska banka omogućuje diferencijalnu dijagnozu pozitivnih uzoraka sa vrlo specifičnim profilom za *E. multilocularis* i *E. granulosus*.

E. multilocularis profil (P3 profil)

Osjetljivost = 67,2% [CI95 53,9-78,4%] Specifičnost u odnosu na *E. granulosus* = 100% [91,1 - 100%].

Profil *E.granulosus* (profili P1 i P2)

Osjetljivost = 68% [IC95 53,2 - 80,1%] Specifičnost u usporedbi s *E. multilocularis* = 100% [92,6 - 100%]. Napomena: Profil P1 pronađen je, međutim, u 5 slučajeva (od 42) cisticerkoze.

Intervali pouzdanosti su izračunati prema Wilsonovoj metodi pomoću korekcije kontinuiteta.

Reproducibilnost

Ispitana je inter-serijska i inter-lot reproduktivnost. U oba slučaja, korelacija seruma i serumima s obzirom na specifične vrpce je odlična.

Interferencije

Iako nije zabilježena posebna križna reakcija s hemoliziranim, ikteričnim ili lipidnim serumima, preporuča se pažljivo interpretirati rezultate korištenja takvih uzoraka.

RJEŠAVANJE PROBLEMA

"Trake su bijede s malo kontrasta": Određeni serumi s niskim koncentracijama antitijela mogu dati takve rezultate.

"Vide se zasjenjena područja, više ili manje obojena, malo difuzna": Traka nije potpuno potopljena u jedan od reagensa i nije se pravilno inkubirala duž cijele dužine. Mrlje mogu također biti prisutne tamo gdje je uzorak bio odložen, ako se pladanj nije protresao nakon točenja.

"Pozadinska buka je značajna, što otežava čitanje": Ispiranje je bilo nedovoljno ili je posljednja inkubacija bila predugačka. Osigurati dobre tehnike ispitivanja, poštivati vrijeme ispiranja i osigurati kvalitetu vode. Smanjiti vrijeme posljednje inkubacije.

Iznimno, određeni serumi mogu reagirati na nespecifičan način. Tada se rezultat imunoblota ne može koristiti. Ova nespecifična pozadinska buka može uključivati samo dio trake, što rezultate čini nerazumljivim samo za taj dio.

"U posljednjem stupnju razvoja pojavljuje se talog u otopini": supstrat može u stvari djelomično precipitirati (crne pahuljice) u puferu na kraju razvoja. Ovaj fenomen ne mijenja kvalitetu razvoja koji se mora normalno nastaviti. Posljednje ispiranje destiliranom vodom eliminira moguće krute čestice.

LITERATURA

- Atanasov G, Benckert C, Thelen A, Tappe D, Frosch M, Teichmann vD, Barth TFE, Wittekind C, Schubert S, et Jonas S. 2013. « Alveolar Echinococcosis-Spreading Disease Challenging Clinicians: A Case Report and Literature Review ». *World Journal of Gastroenterology: WJG* 19 (26): 4257-61. doi:10.3748/wjg.v19.i26.4257.
- Auer H. 2006. « [Relevance of parasitological examinations for the clinical course, epidemiology and prevention of alveolar echinococcosis - experiences of more than two decades in Austria] ». *Wiener Klinische Wochenschrift* 118 (19-20 Suppl 3): 18-26. doi:10.1007/s00508-006-0673-3.
- Bart JM, Piarroux M, Sako Y, Grenouillet F, Bresson-Hadni S, Piarroux R, et Ito A. 2007. « Comparison of several commercial serologic kits and Em18 serology for detection of human alveolar echinococcosis ». *Diagnostic microbiology and infectious disease* 59 (1): 93-95. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2007.03.018.
- Brunetti E, Kern P, Vuitton DA, et Writing Panel for the WHO-IWGE. 2010. « Expert Consensus for the Diagnosis and Treatment of Cystic and Alveolar Echinococcosis in Humans ». *Acta Tropica* 114 (1): 1-16. doi:10.1016/j.actatropica.2009.11.001.
- Furuya K, Kawanaka M, Yamano K, Sato N, et H Honma H. 2004. « [Laboratory evaluation of commercial immunoblot assay kit for serodiagnosis of Echinococcus infections using sera from patients with alveolar hydatidosis in Hokkaido] ». *Kansenshōgaku zasshi. The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases* 78 (4): 320-26.
- Lianc M, Janin V, Bresson-Hadni S, Vuitton DA, Houin R, et Piarroux R. 2000. « Immunodiagnosis of Echinococcus

infections: confirmatory testing and species differentiation by a new commercial Western Blot ». *Journal of clinical microbiology* 38 (10): 3718-21.

Logar J, Soba B, et Kotar T. 2008. « Serological evidence for human cystic echinococcosis in Slovenia ». *BMC infectious diseases* 8: 63. doi:10.1186/1471-2334-8-63.

Logar J, Soba B, Lejko-Zupanc T, et Kotar T. 2007. « Human alveolar echinococcosis in Slovenia ». *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 13 (5): 544-46. doi:10.1111/j.1469-0691.2007.01701.x.

Makni F, Hachicha L, Mseddi F, Hammami H, Cheikhrouhou F, Sellami H, Sellami A, et al. 2007. « [Contribution of Western blotting to the diagnosis of hydatidosis] ». *Bulletin De La Société De Pathologie Exotique (1990)* 100 (3): 171-73.

Otranto D, et Eberhard ML. 2011. « Zoonotic Helminths Affecting the Human Eye ». *Parasites & Vectors* 4: 41. doi:10.1186/1756-3305-4-41.

Reiter-Owona I, Grüner B, Frosch M, Hoerauf A, Kern P, et Tappe D. 2009. « Serological confirmatory testing of alveolar and cystic echinococcosis in clinical practice: results of a comparative study with commercialized and in-house assays ». *Clinical laboratory* 55 (1-2): 41-48.

Rinaldi F, Brunetti E, Neumayr A, Maestri M, Goblirsch S, et Tamarozzi F. 2014. « Cystic Echinococcosis of the Liver: A Primer for Hepatologists ». *World Journal of Hepatology* 6 (5): 293-305. doi:10.4254/wjh.v6.i5.293.

Tamarozzi, F.; Longoni, S.S.; Vola, A.; Degani, M.; Tais, S.; Rizzi, E.; Prato, M.; Scarso, S.; Silva, R.; Brunetti, E.; et al. 2021. « Evaluation of Nine Commercial Serological Tests for the Diagnosis of Human Hepatic Cyst Echinococcosis and the Differential Diagnosis with Other Focal Liver Lesions: A Diagnostic Accuracy Study ». *Diagnostics*, 11, 167. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020167>

Tappe D, Grüner B, Kern P, et Frosch M. 2008. « Evaluation of a commercial Echinococcus Western Blot assay for serological follow-up of patients with alveolar echinococcosis ». *Clinical and vaccine immunology: CVI* 15 (11): 1633-37. doi:10.1128/CVI.00272-08.

Yamano K, Yagi K, Furuya K, Sawada Y, Honma H, et Sato N. 2005. « Active Alveolar Hydatidosis with Sero-Negativity for Antibody to the 18 kDa Antigen ». *Japanese Journal of Infectious Diseases* 58 (2): 122-24.

Zait H, Achir I, Guerchani MK, et Hamrioui B. 2013. « [Epidemiological profile of 290 cases of human cystic echinococcosis diagnosed in the Mustapha University Hospital (Algiers) from 2006 to 2011] ». *Pathologie-Biologie* 61 (5): 193-98. doi:10.1016/j.patbio.2013.03.001.

OBAVIJEST O AŽURIRANJU - Pažljivo pročitajte

DATUM IZLASKA	VERZIJA	SAŽETAK MODIFIKACIJE
30/11/2022	Vs16	Nova adresa
07/12/2022	Vs17	R6 bez NaN3. Traka označena slovom D. Moguća uporaba reagensa iz različitih serija.



24 Av. Joannes MASSET – 69009 LYON – FRANCE
 Tel : +33(0)4 7883 3487 – Fax : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostic.com – info@ldbiodiag.com