

**LEISHMANIA**

CE

**Western Blot IgG***In vitro* dijagnostički imunoblot test

Poluautomatizirana / ručna metoda

#LES-WB24G: 24 testova

#LES-WB12G: 12 testova

#LES-WB96G: 96 testova

## UPUTE ZA UPOTREBU

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

[www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)

## Namjena

**LEISHMANIA Western Blot (WB) IgG** je jednokratan upotreba kvalitativan test serološke dijagnostike IgG pomoću imunoblot testa za leišmanijaze namijenjenog za potvrđno ispitivanje pozitivnog ili dvosmislenog rezultata dobivenog klasičnim testovima probira.l.

## Princip testa

### Western Blot tehnika

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

### Provodenje 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 u kit

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

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

ID	Kol.	Opis	Sastav
R1	1	Mape od 24 ( <b>12, 4x24</b> ) 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 ( <b>30, 125</b> ) ml PUFERA ZA UZORAK (spremna za upotrebu - ružičasta otopina).	Pufer + surfaktant.
R3	1	Bočica (e) od 30 ( <b>30, 2x60</b> ) ml ANTI IgG KONJUGAT (spremna za upotrebu - plava otopina).	Pufer + anti-humanı IgG poliklonalni kozji serum konjugiran s alkalnom fosfatazom + NaN3 (<0.1%) + stabilizatori.
R5	1	Bočica od 30 ( <b>30, 125</b> ) ml SUBSTRATA (Spreman za upotrebu - neprozirna smeđa bočica).	Pufer + NBT + BCIP + stabilizatori.
R6	1	Bočica od 60 ( <b>60, 250</b> ) ml WASH CONCENTRATE 10X PUFER (Razrijediti 10 puta u destiliranoj vodi - bezbojna otopina).	Pufer + surfaktant.
R10	1	Epruveta od 200 ( <b>200, 2x200</b> ) µl POZITIVNOG KONTROLNOG SERUMA (Spreman za uporabu - crvena kapa).	Pufer + bazen humanog seruma pozitivan u <i>Leishmania</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 provodenje 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.Idbiagnostics.com](http://www.Idbiagnostics.com).

## Potrebni dodatni material koji nije uključen

- Višekanalne polipropilenske inkubacijske posude za mini-mrlje (# WBPP-08 ili ekvivalent).
- Platforma za ljaljanje 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 stavljamte 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.

## Mjere opreza prilikom upotrebe

### Sigurnost

- Samo za *in vitro* uporabu. Samo za profesionalnu upotrebu. Samo za tehnički osposobljeno 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 boćice 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 boćica 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 primijećena 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 utronili.
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 ljljanje. **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 ljljanje 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 ljljanje. **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 ljljanje 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 zalijepite 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

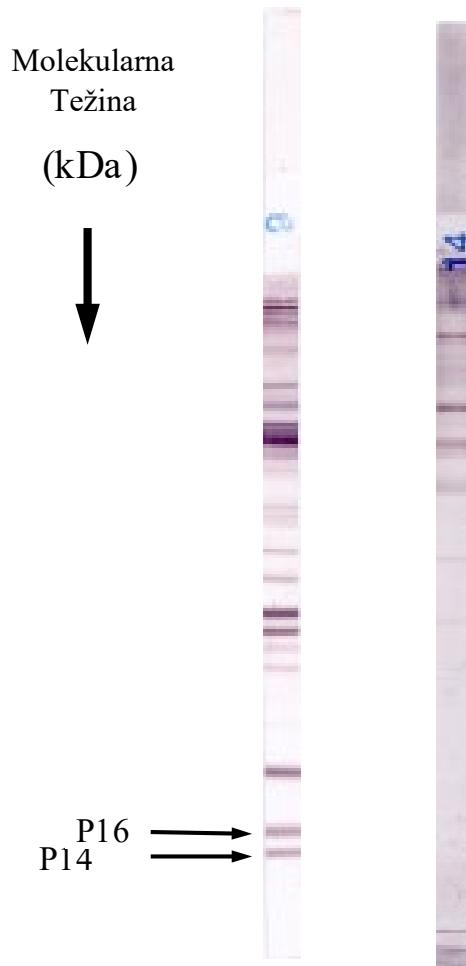
Kontrola seruma (R10) iz kita se mora sustavno uključiti u bilo koju seriju imunoblotova. Prikazuje tipičan profil i omogućuje tehničku validaciju dobrog vođenja testa (trake moraju biti vrlo jasno prikazane na traci) i precizno kalibrirati položaj i aspekt specifičnih traka kako bi se omogućilo tumačenje 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.Idbiagnostics.com](http://www.Idbiagnostics.com) kao primjer.

### Opis traka

Pozitivni uzorak može predstavljati brojne trake smještene između 8 i 200 k kilodaltona (kDa). Određene su specifične za lišmanijazu. Međutim, poteškoća u njihovom lociranju u sredini ostalih traka bez određene specifičnosti je nedostatak njihove uporabe.

Potražite prisutnost 14 i 16 kDa traka za svaki od ispitivanih uzoraka s gore opisanim kalibracijskim alatima. Ove trake, smještene na dnu trake i općenito dobro izolirane općenito se vrlo lako interpretiraju.



**Slika 1:** Primjeri pozitivnih i negativnih rezultata

Profili su dati kao primjeri. Trake su označene slovom "C" specifičnim za parametar iz serije "02007".

### Interpretacija

Prisutnost antigene vrpce od 14 kDa i / ili 16 kDa na traci omogućava da se test protumači kao pozitivan i da se zaključi da su anti-Leishmania IgG protutijela prisutna u testiranom uzorku.

*Da bi se potvrdili rezultati, uvjek 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.

*Negativan serološki rezultat ne isključuje dijagnozu visceralne lišmanijaze, osobito kod imunosupresivnih pacijenata. Svaka sumnja na lišmanijazu mora automatski rezultirati parazitološkim pretraživanjem protozoa.*

## Izvedba (vidi reference iz literature)

**LEISHMANIA WB IgG** bio je predmetom usporedne studije s IFA i ELISA tehnikama u neovisnom laboratoriju.

Osjetljivost:

	IFA	ELISA	WB
POZITIVAN	41	40	51
NEGATIVAN	10	11	0

**Tablica 1:** 51 seruma osoba oboljelih od progresivne visceralne lišmanijaze testirane su pomoću 3 tehnike. ELISA i IFA su pokazali lažno negativne rezultate, osobito kod imuno-kompromitiranih pacijenata (HIV).

	IFA	ELISA	WB
POZITIVAN	0	0	15
NEGATIVAN	20	20	5

**Tablica 2:** 20 seruma zdravih pacijenata koji žive u endemskom području i pokazuju pozitivan test osjetljivosti kože testirani su paralelno s trima tehnikama: osjetljivost IFA i ELISA nije dovoljna za otkrivanje vrlo niskih razina antitijela.

Specifičnost:

	IFA	ELISA	WB
POZITIVAN	0	0	0
NEGATIVAN	30	30	30

**Tablica 3:** 30 seruma zdravih odraslih pacijenata u neendemskom području testirano je paralelno s imunoblotom, ELISA i IFA u neovisnom laboratoriju: specifičnost triju tehnika bila je 100%.

**NAPOMENA:** Lažno pozitivne reakcije često se nalaze, bez obzira na tehniku, kod pacijenata koji pate od tripanosomijaze (*T. cruzi*).

## Zaključak

WB ima izvrsnu osjetljivost koja mu omogućuje učinkovito otkrivanje pacijenata s visceralnom lišmaniozom čak i u kontekstu imunodepresije.

Omogućuje otkrivanje asimptomatskih nosača, a ima izvrsnu specifičnost, što pokazuje odsutnost pozitivnih seruma u ne-endemičnih bolesnika.

**Se = 100% [IC95 91,3 - 100%]**

**Sp = 100% [IC95 79,9 - 100%]**

Intervali pouzdanosti izračunavaju se prema Wilsonovoj metodi s korekcijom 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 blijede 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 pladanji 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

- Aoun, Olivier, Charles Mary, Cédric Roqueplo, Jean-Lou Marié, Olivier Terrier, Aurélie Levieuge, et Bernard Davoust. 2009. « Canine Leishmaniasis in South-East of France: Screening of Leishmania Infantum Antibodies (western Blotting, ELISA) and Parasitaemia Levels by PCR Quantification ». *Veterinary Parasitology* 166 (1-2): 27-31. doi:10.1016/j.vetpar.2009.08.006.
- Biglino, A., C. Bolla, E. Concialdi, A. Trisciuglio, A. Romano, et E. Ferroglio. 2010. « Asymptomatic Leishmania Infantum Infection in an Area of Northwestern Italy (Piedmont Region) Where Such Infections Are Traditionally Nonendemic ». *Journal of Clinical Microbiology* 48 (1): 131-36. doi:10.1128/JCM.00416-09.
- Cota, Gláucia Fernandes, Marcos Roberto de Sousa, Fábio Nogueira Demarqui, et Ana Rabello. 2012. « The Diagnostic Accuracy of Serologic and Molecular Methods for Detecting Visceral Leishmaniasis in HIV Infected Patients: Meta-Analysis ». *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (5): e1665. doi:10.1371/journal.pntd.0001665.
- Deniau, M., C. Cañavate, F. Faraut-Gambarelli, et P. Marty. 2003. « The Biological Diagnosis of Leishmaniasis in HIV-Infected Patients ». *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* 97 (Supplement-1): 115-33. doi:10.1179/000349803225002598.
- Ferroglio, E., E. Centaro, W. Mignone, et A. Trisciuglio. 2007. « Evaluation of an ELISA Rapid Device for the Serological Diagnosis of Leishmania Infantum Infection in Dog as Compared with Immunofluorescence Assay and Western Blot ». *Veterinary Parasitology* 144 (1-2): 162-66. doi:10.1016/j.vetpar.2006.09.017.
- Kallel, K, L Ammari, E Kaouech, S Belhadj, S Anane, B Kilani, et E Chaker. 2007. « [Asymptomatic bearing of Leishmania infantum among Tunisian HIV infected patients] ». *Pathologie-biologie* 55 (10): 521-24. doi:10.1016/j.patbio.2007.07.017.

- Lachaud, L., J. P. Dedet, P. Marty, F. Faraut, P. Buffet, J. P. Gangneux, C. Ravel, P. Bastien, et Working Group for the Notification of Human Leishmanioses in France. 2013. « Surveillance of Leishmaniasis in France, 1999 to 2012 ». *Euro Surveillance: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 18 (29): 20534.
- Marty, P., A. Lelievre, J. F. Quaranta, A. Rahal, M. Gari-Toussaint, et Y. Le Fichoux. 1994. « Use of the Leishmanin Skin Test and Western Blot Analysis for Epidemiological Studies in Visceral Leishmaniasis Areas: Experience in a Highly Endemic Focus in Alpes-Maritimes (France) ». *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 88 (6): 658-59.
- Marty, P., A. Lelièvre, J. F. Quaranta, I. Suffia, M. Eulalio, M. Gari-Toussaint, Y. Le Fichoux, et J. Kubar. 1995. « Detection by Western Blot of Four Antigens Characterizing Acute Clinical Leishmaniasis due to Leishmania Infantum ». *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 89 (6): 690-91.
- Mary, C., D. Lamouroux, S. Dunan, et M. Quilici. 1992. « Western Blot Analysis of Antibodies to Leishmania Infantum Antigens: Potential of the 14-kD and 16-kD Antigens for Diagnosis and Epidemiologic Purposes ». *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 47 (6): 764-71.
- Pomares, Christelle, Laura Despierres, Pascal del Giudice, Pascal Delaunay, Grégory Michel, Bernard Ferrua, et Pierre Marty. 2012. « Western Blot Analysis as an Aid for the Diagnosis of Cutaneous Leishmaniasis due to Leishmania Major ». *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 106 (7): 452-54. doi:10.1016/j.trstmh.2012.03.001.
- Ready, Paul. 2014. « Epidemiology of Visceral Leishmaniasis ». *Clinical Epidemiology*, mai, 147. doi:10.2147/CLEP.S44267.
- Saghrouni, F, I Khammari, N Kaabia, J Bouguila, J Ben Abdeljelil, A Fathallah, F Amri, et M Ben Saïd. 2011. « Asymptomatic carriage of Leishmania in family members of patients with visceral leishmaniasis in Central Tunisia ». *Pathologie-biologie*, décembre. doi:10.1016/j.patbio.2011.11.001.
- Solano-Gallego, Laia, Guadalupe Miró, Alek Koutinas, Luis Cardoso, Maria Grazia Pennisi, Luis Ferrer, Patrick Bourdeau, Gaetano Oliva, Gad Baneth, et null The LeishVet Group. 2011. « LeishVet Guidelines for the Practical Management of Canine Leishmaniosis ». *Parasites & Vectors* 4: 86. doi:10.1186/1756-3305-4-86.
- Van Griensven, J., E. Carrillo, R. López-Vélez, L. Lynen, et J. Moreno. 2014. « Leishmaniasis in Immunosuppressed Individuals ». *Clinical Microbiology and Infection* 20 (4): 286-99. doi:10.1111/1469-0691.12556.

#### OBAVIJEST O AŽURIRANJU - Pažljivo pročitajte

DATUM IZLASKA	VERZIJA	SAŽETAK MODIFIKACIJE
02/08/2021	Vs 15	Uklanjanje sigurnosnog upozorenja R5 - Kontakt adresa e-pošte – NaN3 EUH 032.
24/10/2022	Vs16	R6 bez NaN3. Traka označena slovom C. Moguća uporaba reagensa iz različitih serija.
30/11/2022	Vs17	Nova adresa



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