

ECHINOCOCCUS CE



Western Blot IgG

In vitro διαγνωστική δοκιμασία Immunoblot
Ημι-αυτόνομη / χειροκίνητη τεχνική

#ECH-WB24G: 24 tests

#ECH-WB12G: 12 tests

#ECH-WB96G: 96 tests

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Βρείτε περισσότερες πληροφορίες και οδηγίες χρήσης στη γλώσσα σας στην ιστοσελίδα μας
www.ldbiodiagnostics.com

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

ECHINOCOCCUS Western Blot (WB) IgG είναι μία ποιοτική δοκιμασία μιας χρήσης για τη ορολογική διάγνωση IgG μέσω της Δοκιμής Immunoblot της alveolar echinococcosis και της hydatidosis, που προορίζεται για επιβεβαιωτικές εξετάσεις θετικών ή αμφισβητούμενων αποτελεσμάτων που αποκτήθηκαν μέσω κλασικών δοκιμών ανίχνευσης.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Τεχνική Western Blot

Τα αντιγόνα των προνυμφών *Echinococcus multilocularis*, αφού διαχωριστούν μέσω ηλεκτροφόρησης, δεσμεύονται μέσω electroblotting στην επιφάνεια μιας μεμβράνης νιτροκυτταρίνης (που ονομάζεται μεταφορά), η οποία κόβεται σε 24 strips αριθμημένα από 1 έως 24.

Διεξαγωγή της δοκιμής

Κάθε δείγμα προς εξέταση επωάζεται ξεχωριστά με ένα strip. Τα ειδικά αντισώματα που ενδέχεται να υπάρχουν στο δείγμα προσδένονται επιλεκτικά στα αντιγόνα. Το σύμπλεγμα αλκαλικής φωσφατάσης-αντί IgG ανθρώπινου τύπου προσδένεται στα δεσμευμένα αντισώματα. Τέλος, τα ανοσοσύμπλοκα αντιδρούν με το υπόστρωμα. Τα αντιγόνα που αναγνωρίζονται από τα ειδικά αντισώματα τύπου IgG που υπάρχουν στα δείγματα αποκαλύπτονται ως μωβ εγκάρσια strips.

ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Default: συσκευασία των 24 tests (#ECH-WB24G)

Italic: συσκευασία των 12 tests (#ECH-WB12G) – **Bold:** συσκευασία των **96 tests** (#ECH-WB96G)

ID	Ποσότητα	Περιγραφή	Σύσταση
R1	1	Φάκελος(οι) των 24 (12, 4x24) STRIPS: κομμένα + έγχρωμα Πρότυπα. (Κάθε φάκελος και κάθε μεταφορά αναγνωρίζεται με έναν μοναδικό αριθμό σειράς)	Ευαισθητοποιημένη νιτροκυτταρίνη. Έγχρωμο Μοριακό Βάρος (kDa): Μπλε: 250, Μπλε: 150, Μπλε: 100, Ροζ: 75, Μπλε: 50, Πράσινο: 37, Ροζ: 25, Μπλε: 20, Μπλε: 15, Κίτρινο: 10.
R2	1	Φιαλίδιο των (30, 125) mL SAMPLE BUFFER (Έτοιμο προς χρήση – ροζ διάλυμα).	Ρυθμιστικό διάλυμα + επιφανειοδραστική ουσία.
R3	1	Φιαλίδιο(α) των 30 (30, 2x60) mL ANTI IgG CONJUGATE (Έτοιμο προς χρήση – μπλε διάλυμα).	Ρυθμιστικό διάλυμα + πολυκλωνικά anti-ανθρώπινα IgG αντισώματα ορού από αίγα συζευγμένα με Αλκαλική Φωσφατάση + NaN ₃ (<0.1%) + σταθεροποιητές.
R5	1	Φιαλίδιο των 30 (30, 125) mL SUBSTRATE (Έτοιμο προς χρήση – αδιαφανές καφέ φιαλίδιο).	Ρυθμιστικό διάλυμα + NBT + BCIP + σταθεροποιητές.
R6	1	Φιαλίδιο των 60 (60, 250) mL WASH CONCENTRATE 10X BUFFER (Πρέπει να αραιωθεί 10 φορές με απεσταγμένο νερό – άχρωμο διάλυμα).	Ρυθμιστικό διάλυμα + επιφανειοδραστική ουσία.
R10	1	Σωληνάριο των 200 (200, 2x200) µL POSITIVE CONTROL SERUM (Έτοιμο προς χρήση – κόκκινο καπάκι).	Ρυθμιστικό διάλυμα + μίγμα ανθρώπινου ορού θετικό σε <i>Echinococcus multilocularis</i> ορολογία + NaN ₃ (<0.1%) + σταθεροποιητές.

R1: Το γράμμα πριν από κάθε αριθμό strip είναι συγκεκριμένο για την παράμετρο.

R2, R3, R5 and R6 είναι κοινά για όλα τα kit και έχουν έναν μοναδικό αριθμό παρτίδας που εξαρτάται μόνο από την ημερομηνία παραγωγής τους. **Συνιστάται να πραγματοποιούνται δοκιμές πολλαπλών παραμέτρων (βλ. LDBIO immunoblot range) για να περιοριστεί ο αριθμός των ανοιγμένων φιαλιδίων και να εξασφαλιστεί καλύτερος έλεγχος ποιότητας.**

R10 είναι βαθμονομημένο σε immunoblot σύμφωνα με μια παρτίδα αναφοράς και είναι μόνο για τη συγκεκριμένη.

R3, R10 (NaN3): EUH 032 – Η επαφή με οξέα απελευθερώνει πολύ τοξικό αέριο.

EUH 210 Δελτίο δεδομένων ασφαλείας είναι διαθέσιμο κατόπιν αιτήματος καθώς και στην ιστοσελίδα μας www.ldbiodiagnostics.com

ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΑ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Ένας δίσκος επώασης πολλαπλών καναλιών από πολυπροπυλένιο για mini-blot (# WBPP- 08 ή ισοδύναμο).
- Μια πλατφόρμα κίνησης για immunoblots, ένα σύστημα αναρρόφησης για υγρά (#WBPP-08 tubs που παρέχουμε μπορούν να αδειάσουν απλά αναποδογυρίζοντας τα).
- Σωληνάκια και υλικό για σχεδιασμό δειγμάτων, ογκομετρικοί κύλινδροι, προσαρμοσμένα δοχεία. Αυτόματες πιπέτες, μικροπιπέτες και tips μιας χρήσεως (όγκοι 25 μ L, 1.2 mL και 2 mL).
- Απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό. Απορροφητικό χαρτί (π.χ. Whatman filter paper), διαφανής αυτοκόλλητη ταινία.
- Γάντια, λαβίδες για τη χειρισμό των strips, κόφτης ή νυστέρι, επίπεδος διαφανής χάρακας.

Σημείωση: Τα αντιδραστήριά μας μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αυτοματοποιημένο επεξεργαστή immunoblot. Θα πρέπει να ληφθεί μέριμνα για τις πιθανές χημικές επιμολύνσεις των αντιδραστηρίων μας εάν ο επεξεργαστής μοιράζεται με αντιδραστήρια άλλου κατασκευαστή (γνωστό παράδειγμα: επιμόλυνση από TWEEN 20), καθώς και βακτηριακές επιμολύνσεις. Κρατήστε τα φιαλίδια για τον επεξεργαστή. Μετά την επεξεργασία, μην τοποθετείτε τα υπόλοιπα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια πίσω στα αρχικά φιαλίδια.

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύστε μεταξύ 2 και 8°C. Τα αντιδραστήρια του kit είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο εξωτερικό κουτί και στις ετικέτες των φιαλιδίων. Μην χρησιμοποιείτε επιμολυσμένα ή θολά αντιδραστήρια. Το αραιωμένο 1/10 διάλυμα πλύσεως είναι σταθερό για 2 μήνες στους +2 έως +8 °C και για μία εβδομάδα σε θερμοκρασία δωματίου.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΧΡΗΣΕΩΣ

Ασφάλεια

- Μόνο για *in vitro* χρήση. Μόνο για επαγγελματική χρήση. Απευθύνεται μόνο σε τεχνικά καταρτισμένο προσωπικό. Χειριστείτε σύμφωνα με τις Καλές Εργαστηριακές Πρακτικές και θεωρήστε κάθε αντιδραστήριο και κάθε δείγμα ως ενδεχομένως τοξικό και/ή μολυσματικό.
- Φορέστε εργαστηριακή ποδιά, γάντια και γυαλιά. Μην πίνετε, μην τρώτε ή μην καπνίζετε στο εργαστήριο. Μην βάζετε τις πιπέτες στο στόμα.
- Ο θετικός έλεγχος είναι ορός ανθρώπινης προέλευσης που έχει αδρανοποιηθεί για τους ιούς HIV 1 και 2, ηπατίτιδας Β και ηπατίτιδας C. Ωστόσο, πρέπει να χειρίζεται σαν ενδεχομένως μολυσματικό προϊόν.
- Το υπόστρωμα περιέχει ένα μείγμα NBT και BCIP, το οποίο είναι τοξικό σε επαφή (με το δέρμα και τους βλεννογόνους) και με εισπνοή.
- Τα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου, το οποίο μπορεί να σχηματίσει εκρηκτικά μεταλλικά άλατα με μόλυβδο και χαλκό. Ξεπλύνετε τυχόν διαρροή με νερό.
- Διενεργείτε την απόρριψη των αποβλήτων (δειγμάτων, tips, σωληναρίων, υγρού πλύσεως, χρησιμοποιημένων αντιδραστηρίων κ.λπ.) σύμφωνα με τις καλές πρακτικές που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία και τους ισχύοντες κανονισμούς της χώρας.
- Κάθε σοβαρό περιστατικό πρέπει να δηλώνεται στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή.

Προφυλάξεις

- Διαβάστε και ερμηνεύστε τα αποτελέσματα κάτω από άμεσο λευκό φως.
- Είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται όλα τα αντιδραστήρια από την ίδια παρτίδα. Αν χρησιμοποιούνται διαφορετικές παρτίδες, εξασφαλίστε την ιχνηλασιμότητα.
- Χρησιμοποιείτε τα strips με τη σειρά αριθμού. Μην αναμειγνύετε strips από διαφορετικούς αριθμούς σειράς. Χρησιμοποιείτε τις μεταφορές κατά σειρά. Καθορίστε ένα συγκεκριμένο σχέδιο κατανομής πριν ξεκινήσετε τη δοκιμή.
- Μην αγγίζετε τα strips με τα δάχτυλα σας, χρησιμοποιείτε λαβίδες.
- Τα αντιδραστήρια πρέπει να αναμειγνύονται καλά πριν τη χρήση, ιδιαίτερα το συμπυκνωμένο διάλυμα πλύσεως.
- Κλείνετε τα φιαλίδια μετά τη χρήση, μην χρησιμοποιείτε αν έχει εισαχθεί κατά λάθος κάποια ουσία στα αντιδραστήρια. Μην χρησιμοποιείτε αντιδραστήριο από φιαλίδιο που παρουσιάζει σημάδια διαρροής. Μην χρησιμοποιείτε θολό ή ιζηματώδες διάλυμα.
- Χρησιμοποιείτε μόνο μιας χρήσης tips πιπετών. Αποφύγετε οποιαδήποτε διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ καναλιών. Προσέξτε για τη δημιουργία αφρού ή φυσαλίδων στα tips (βακτηριακή επιμόλυνση των φιαλιδίων αντιδραστηρίων).
- Καθαρίζετε τα δισκία επώασης μόνο με απεσταγμένο νερό (μην χρησιμοποιείτε απορρυπαντικά ή χλωρίνη).
- Η παράλειψη δείγματος ή η κατανομή ακατάλληλου όγκου μπορεί να προκαλέσει αρνητικό ή θετικό αποτέλεσμα, ανεξαρτήτως της πραγματικής κατάστασης του δείγματος.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Συλλέξτε τα δείγματα με αποστειρωμένο τρόπο σε στεγνά σωληνάκια. Ο ελάχιστος όγκος ορού είναι 25 μ L.

Διατηρείτε τα δείγματα στους 2-8 °C μέχρι να επεξεργαστούν. Αν χρειάζεται να αποθηκευτούν για περισσότερο από μια εβδομάδα, καταψύξτε τα δείγματα στους -20 $\pm$ 5 °C. Μην χρησιμοποιείτε μολυσμένο δείγμα. Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη των δειγμάτων.

Αν και δεν έχει παρατηρηθεί καμία ιδιαίτερη διασταυρούμενη αντίδραση με αιμολυμένους, ικτερικούς ή λιπιδικούς ορούς, συνιστάται η προσεκτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων από τη χρήση τέτοιων δειγμάτων.

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Wash buffer: Για 4 δοκιμές, σε ένα καθαρό μπουκάλι, αραιώστε 10 mL Συμπυκνωμένου Διαλύματος Πλύσεως 10X (R6) σε 90 mL απεσταγμένου ή αποιονισμένου νερού. Φροντίστε να αναμίξετε καλά το αραιωμένο διάλυμα πλύσεως.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Σημείωση: Συνιστάται να πραγματοποιούνται δοκιμές πολλαπλών παρεμέτρων (βλ. LDBIO immunoblot range) για να περιοριστεί ο αριθμός των ανοιγμένων φιαλιδίων και να εξασφαλιστεί καλύτερος ποιοτικός έλεγχος.

1. Προετοιμάστε ένα σχέδιο κατανομής για τα δείγματα και τον θετικό έλεγχο C+ (R10).

Μόνο με τη χρήση αυτού του ελέγχου μπορεί η δοκιμή να επικυρωθεί τεχνικά και να γίνει αναγνώριση, για ένα δεδομένο αριθμό σειράς, των συγκεκριμένων ζωνών που αναπτύχθηκαν. Ένα strip C+ δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων από ένα blot διαφορετικού αριθμού σειράς.

2. Κόψτε τον απαιτούμενο αριθμό strips (R1) χρησιμοποιώντας ένα νυστέρι και έναν καθαρό και στεγνό επίπεδο διαφανή χάρακα (R1), διατηρώντας τη μπλε γραμμή τοποθέτησης στα strips: κρατήστε τα strips σταθερά με τον χάρακα και κόψτε τα από την πλευρά της λωρίδας (οι αριθμοί είναι ορατοί μέσω του χάρακα).
3. Διανείμετε 1.2 mL του sample buffer (R2) σε κάθε κανάλι σύμφωνα με το καθορισμένο σχέδιο.
4. Τοποθετήστε τα αριθμημένα strips, με τη σειρά τους, στα κανάλια: αφήστε τα strips να ενυδατωθούν ξανά στην επιφάνεια του διαλύματος για περίπου 2 λεπτά, με τον αριθμό ορατό στην κορυφή, ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ ανακινήστε απαλά τον δίσκο για να τις βυθίσετε πλήρως στο διάλυμα.
5. Διανείμετε τα δείγματα και τον θετικό έλεγχο σύμφωνα με το σχέδιο κατανομής, με ρυθμό 25 μ L ανά κανάλι. Ανακινήστε απαλά τον δίσκο μετά από κάθε διανομή. Τοποθετήστε τον δίσκο στην πλατφόρμα κίνησης.
Επώαστε για 90 λεπτά $\pm$ 5 λεπτά στους 20-26 °C.
6. Βήμα πλύσεως: Αδειάστε το περιεχόμενο των καναλιών με μία πιπέτα Pasteur ή αναποδογυρίζοντας τον δίσκο επώασης. Διανείμετε 2 έως 3 mL αραιωμένου Wash Buffer σε κάθε κανάλι. Επώαστε στην πλατφόρμα κίνησης για 3 λεπτά. Επαναλάβετε 2 φορές, στη συνέχεια αδειάστε το περιεχόμενο των καναλιών. Βεβαιωθείτε ότι τα strips δεν περιστρέφονται κατά τη διάρκεια αυτών των βημάτων.
7. Διανείμετε 1.2 mL του anti IgG conjugate (R3) σε κάθε κανάλι. Τοποθετήστε τον δίσκο στην πλατφόρμα κίνησης.
Επώαστε για 60 λεπτά $\pm$ 5 λεπτά στους 20-26 °C.
8. Βήμα πλύσεως: επαναλάβετε το βήμα 6.
9. Διανείμετε 1.2 mL του NBT/BCIP substrate (R5) σε κάθε κανάλι. Τοποθετήστε τον δίσκο στην πλατφόρμα κίνησης και προστατέψτε το από το άμεσο φως. **Επώαστε για 60 λεπτά $\pm$ 5 λεπτά στους 20-26 °C.**

Ανεξαρτήτως της παραμέτρου, παρακολουθήστε την ανάπτυξη του χρώματος. Η ανάπτυξη μπορεί να διακοπεί αν το χρώμα του υποβάθρου του strip σκουρύνει σε σημείο που να δυσχεραίνει την ανάγνωση (η ποιότητα των βημάτων πλύσεως έχει θεμελιώδη επίδραση στο χρωματισμό του υποβάθρου). Σημειώστε ότι τα strips θα γίνουν πιο ανοιχτόχρωμα καθώς στεγνώνουν.

10. Σταματήστε την αντίδραση αναρροφώντας το υπόστρωμα με μία πιπέτα Pasteur ή αναποδογυρίζοντας τον δίσκο επώασης και διανέμοντας 2 mL απεσταγμένου ή αποιονισμένου νερού στα κανάλια. Επαναλάβετε αυτό το τελευταίο βήμα πλύσεως μία ακόμη φορά.
11. Στέγνωμα των strips: Με τα κανάλια ακόμα γεμάτα με νερό, ακουμπήστε τα strips από την αριθμημένη άκρη με τις λαβίδες και τοποθετήστε τα, με τον αριθμό ορατό, σε ένα απορροφητικό χαρτί Whatman. Αφήστε τα να στεγνώσουν στον αέρα. Το χρώμα των strips θα γίνει πιο ανοιχτόχρωμο κατά το στέγνωμα. Η ερμηνεία πρέπει να γίνει μόνο μετά την ολοκλήρωση του στεγνώματος.

12. Αποθήκευση: Μεταφέρετε τα strips σε ένα φύλλο χαρτιού, το οποίο θα χρησιμοποιηθεί για την αρχειοθέτησή τους. Ευθυγραμμίστε τις μπλε γραμμές τοποθέτησης. Κρατήστε τις σταθερές με τον επίπεδο χάρακα και κολλήστε το πάνω μέρος των strips με διαφανή αυτοκόλλητη ταινία.

Για καλή ερμηνεία, τα strips πρέπει να τοποθετούνται με τη σειρά μεταφοράς και τη σειρά αριθμού τους, με απόσταση να μην ξεπερνά μερικά χιλιοστά. Είναι αναξιόπιστο να συγκρίνετε strips που είναι τοποθετημένα πολύ μακριά το ένα από το άλλο (π.χ. no.2 με no.15). **Είναι επικίνδυνο** (ψευδή αποτελέσματα) να συγκρίνετε strips από διαφορετικά kits (strips με διαφορετικούς αριθμούς σειράς).

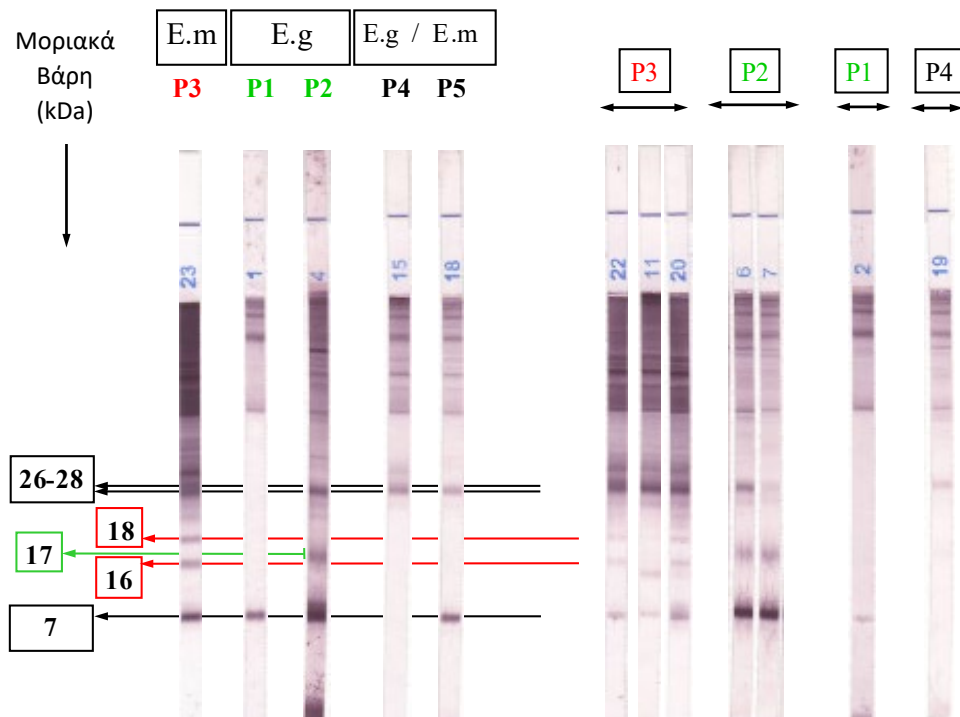
ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ο ορός ελέγχου (R10) που παρέχεται με το kit πρέπει να περιλαμβάνεται συστηματικά σε κάθε σειρά immunoblot. Δείχνει το τυπικό προφίλ και επιτρέπει την τεχνική επικύρωση της καλής διεξαγωγής της δοκιμής (οι ζώνες πρέπει να εμφανίζονται πολύ καθαρά στο strip) και την ακριβή βαθμονόμηση της θέσης και της εμφάνισης των συγκεκριμένων ζωνών, ώστε να επιτραπεί η ερμηνεία των αποτελεσμάτων των strips από την ίδια μεταφορά (ίδιος αριθμός σειράς).

Σημείωση: Το προφίλ θετικού ελέγχου (R10) μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τον αριθμό παρτίδας των χρησιμοποιούμενων αντιδραστηρίων. Οι αντίστοιχες εικόνες είναι διαθέσιμες στην ιστοσελίδα μας www.ldbiodiagnostics.com ως παράδειγμα.

Περιγραφή των ζωνών

- Η περιοχή ανάγνωσης βρίσκεται στο κάτω μισό του strip, μεταξύ 7 και 26-28 kDa. Η ζώνη 26-28 kDa ονομάζεται έτσι διότι μπορεί να παρουσιαστεί με διάφορες μορφές: μια μόνο στενή ζώνη (στα 26 ή στα 28 kDa), μια διπλή ζώνη (26 και 28 kDa) ή μια μεγάλη ζώνη που καλύπτει όλη την περιοχή από 26 έως 28 kDa.
- Οι ακραίες ζώνες 7 and 26-28 kDa χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση του γένους *Echinococcus* (βλ. παρακάτω: § Ερμηνεία I).
- Οι ενδιάμεσες ζώνες, που βρίσκονται μεταξύ 7 και 26-28 kDa χρησιμοποιούνται, όταν υπάρχουν, για τη διάγνωση των ειδών *granulosus* ή *multilocularis* (βλ. παρακάτω: § Ερμηνεία II).



Εικ. 1: Παραδείγματα θετικών και αρνητικών αποτελεσμάτων

Τα προφίλ δίνονται ως παραδείγματα. Τα strips σημειώνονται με το γράμμα "D" που είναι ειδικό για την παράμετρο από την παρτίδα "03023".

Ερμηνεία

- Διάγνωση του γένους:
 - Παρουσία των ακραίων ζωνών 7 και/ή 26-28 kDa
- Διάγνωση των ειδών:
 - Προφίλ **P1** ή **P2**: *Echinococcus granulosus* (E.g)
 - Προφίλ **P3**: *Echinococcus multilocularis* (E.m)
 - Προφίλ **P4** ή **P5**: *E. multilocularis* ή *E. granulosus*

Ερμηνεία I

Διάγνωση του γένους *Echinococcus*:

Αναζητήστε την παρουσία των ζωνών 7 και/ή 26-28 kDa για κάθε ένα από τα δείγματα που ελέγχθηκαν με τα εργαλεία βαθμονόμησης που περιγράφονται παραπάνω (αυτές οι ζώνες είναι χαρακτηριστικές και γενικά πολύ εύκολο να εντοπιστούν).

Η παρουσία των ακραίων ζωνών 7 και/ή 26-28 kDa είναι απαραίτητη για να ερμηνευτεί η δοκιμασία ως θετική και να συμπεράνουμε ότι *anti-Echinococcus* αντισώματα IgG είναι παρόντα στο εξεταζόμενο δείγμα.

Ερμηνεία II

Differential diagnosis of the species *E. granulosus* versus *E. multilocularis*:

Αυτό πραγματοποιείται αναζητώντας τις συγκεκριμένες ζώνες του ενός ή του άλλου από τα άλλα είδη στην ενδιάμεση περιοχή μεταξύ 7 και 26 kDa.

- Ζώνες κοινές και για τα δύο είδη: 12, 15, 20, 24 kDa
- Στενές ζώνες που βρίσκονται μόνο με *E. multilocularis*: 16, 17, 18 kDa
- Ζώνη που βρίσκεται μόνο με *E. granulosus*: μια μεγάλη διάχυτη ζώνη στα 17 kDa.

Μπορούν να βρεθούν 5 διαφορετικά προφίλ.

- Τα προφίλ P1, P2 and P3 (που εμφανίζονται στο 70% των περιπτώσεων) διαγιγνώσκουν τα είδη:

ΠΡΟΦΙΛ P1: Απομονωμένη ζώνη μόνο στα 7 kDa.	<i>Echinococcus granulosus</i>
ΠΡΟΦΙΛ P2: Ζώνη στα 7 kDa + μεγάλη διάχυτη ζώνη στα 17 kDa. (Σημείωση: η ζώνη στα 26-28 kDa είναι επίσης πολύ συχνά παρούσα.)	<i>Echinococcus granulosus</i>
ΠΡΟΦΙΛ P3: Ζώνη στα 26-28 + στενές ζώνες στα 16 και/ή 18 kDa. (Σημείωση: οι περισσότερες από τις άλλες ζώνες στα 7, 12, 15, 17, 20 ή 24 kDa είναι επίσης πολύ συχνά παρούσες.)	<i>Echinococcus multilocularis</i>

- Τα τελευταία 2 προφίλ, P4 and P5 (που βρίσκονται στο 30% των περιπτώσεων), δεν διαφοροποιούν τα 2 είδη *E. granulosus* και *E. multilocularis*.

ΠΡΟΦΙΛ P4:

Απομονωμένη ζώνη μόνο στα 26-28 kDa

ΔΕΝ υπάρχει ενδιάμεση ζώνη

ΠΡΟΦΙΛ P5:

Συνδυασμός των ζωνών στα 7 + 26-28 kDa

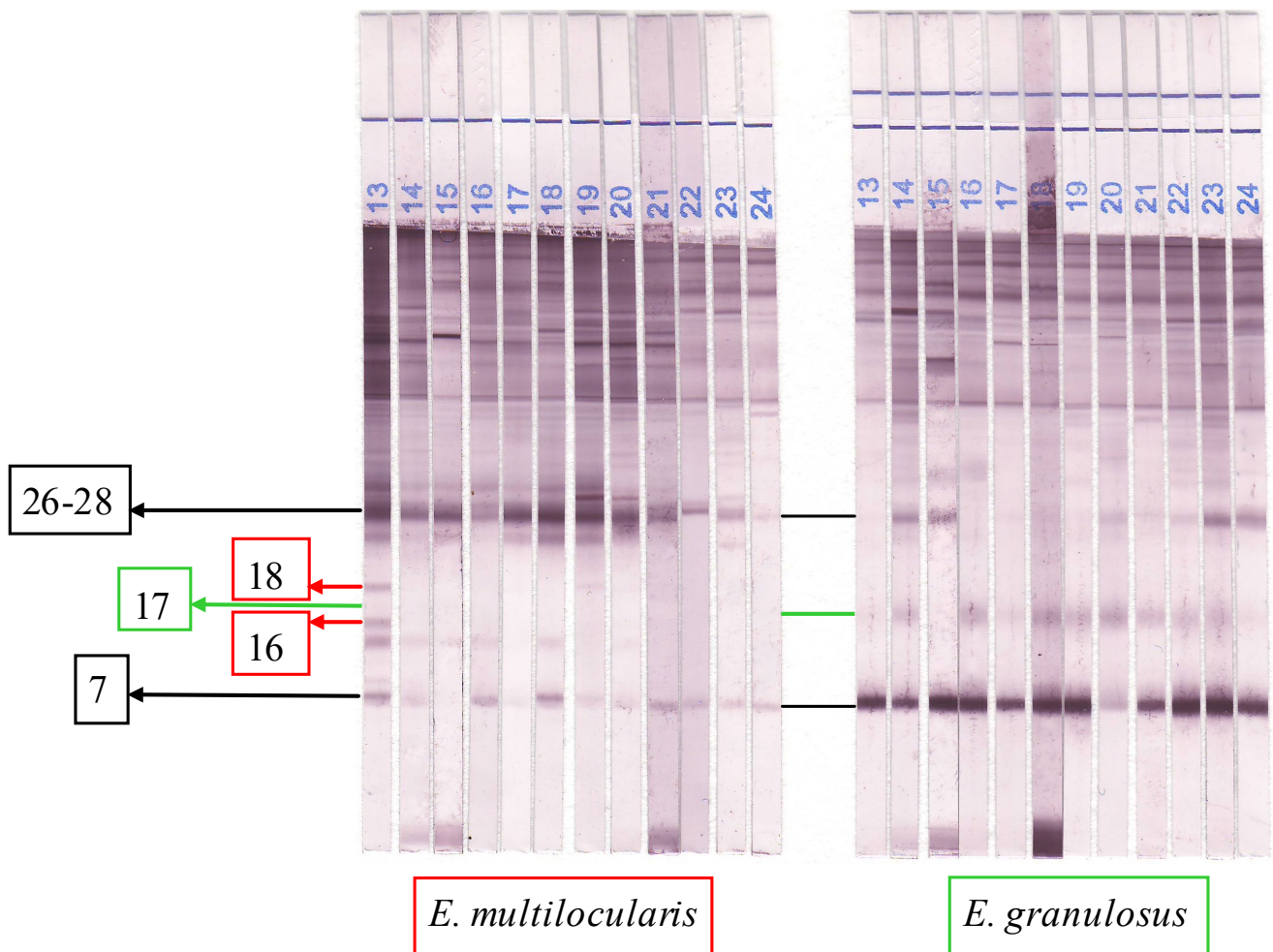
ΔΕΝ υπάρχει ενδιάμεση ζώνη

Σημείωση 1: Η απομονωμένη παρουσία μιας ή περισσότερων από τις ενδιάμεσες ζώνες (12, 15, 16, 17, 18, 20 ή 24 kDa) δεν μπορεί να θεωρηθεί ειδική. Αυτές οι ζώνες δεν βρίσκονται ποτέ απομονωμένες στην περίπτωση της echinococcosis, αλλά πάντα σχετίζονται με τις ζώνες στα 7 kDa και/ή 26-28 kDa.

Σημείωση 2: Οι ζώνες πάνω και, πιο σπάνια, κάτω από την περιοχή των 7-28 kDa είναι πολύ συχνά παρούσες. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για την ερμηνεία της ανάλυσης.

Σημείωση 3: Με εξαίρεση, η ζώνη στα 16 kDa εμφανίστηκε μεγαλύτερη από το κανονικό σε έναν ασθενή που είχε μολυνθεί από *E. multilocularis*. Προσοχή να μην συγχέεται αυτή η ζώνη με τη μεγάλη ζώνη στα 17 kDa που είναι ειδική για το *E. granulosus*.

Σημείωση 4: Οι ενδιάμεσες ζώνες είναι λιγότερο έντονες από τις ζώνες στα 7 και 26-28 kDa. Η σωστή ανάπτυξή τους απαιτεί συχνά επώαση στο υπόστρωμα για 60 λεπτά. Μην διακόπτετε τη διαδικασία πολύ νωρίς.



Εικ. 2: Επιπλέον παραδείγματα θετικών immunoblot δειγμάτων που προέρχονται από ασθενείς μολυσμένους με *E. multilocularis* και *E. granulosus*.

Τα προφίλ δίνονται ως παραδείγματα. Τα strips είναι σημειωμένα με το γράμμα "D", το οποίο είναι ειδικό για την παράμετρο από την παρτίδα "03023".

Αυτά τα δείγματα επιλέχθηκαν ειδικά για να είναι ασθενώς θετικά: όλα τα *E.m* προφίλ είναι ατελή (με εξαίρεση το πρώτο strip, No. 13).

Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί η αντίθεση των προφίλ που συνήθως παρατηρείται για κάθε είδος:

E. multilocularis: Η ζώνη στα 26-28 kDa εμφανίζεται συχνά με τη μορφή διπλής ζώνης, και είναι η πιο έντονη.

E. granulosus: Αντίθετα, η πιο έντονη ζώνη είναι στα 7 kDa.

Αλλά αυτός ο κανόνας δεν είναι απόλυτος (π.χ. *E. m* ζώνη No. 24 - *E. g* ζώνη No. 20).

Για την επικύρωση των αποτελεσμάτων, πάντα να συγκρίνετε το προφίλ του immunoblot κάθε δείγματος με το προφίλ του θετικού ελέγχου R10. Η εμφάνιση των ζωνών είναι σημαντική κατά την ερμηνεία της δοκιμής.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΧΡΗΣΗΣ

- Η διάγνωση μίας λοιμώδους ασθένειας δεν μπορεί να βασιστεί σε ένα μόνο αποτέλεσμα εξέτασης.
- Τα ορολογικά αποτελέσματα πρέπει να ερμηνεύονται σύμφωνα με τις διαθέσιμες πληροφορίες (π.χ. επιδημιολογία, κλινική εικόνα, απεικόνιση, βιολογία...) προκειμένου να τεθεί η διάγνωση. Δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση μόνο με βάση την θετικότητα τους.

ΑΠΟΔΟΣΗ (βλέπε αναφορές βιβλιογραφίας σελ. 19)

Ευαισθησία (Se)

Μία πολυκεντρική μελέτη, που πραγματοποιήθηκε σε δύο ανεξάρτητα εξειδικευμένα εργαστήρια και κάλυψε 111 δείγματα ορού ασθενών (50 περιπτώσεις hydatidosis και 61 περιπτώσεις alveolar echinococcosis που ταυτοποιήθηκαν με βεβαιότητα), παρείχε τα εξής αποτελέσματα:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: προφίλ που αποκτήθηκαν					
	Neg	P1	P2	P3	P4	P5
Hydatidosis (n=50)	1	12	22	0	1	14
Alveolar Echinococcosis (n=61)	2	0	0	41	7	11
Ολικά (n=111)	3	12	22	41	8	25

Πίνακας 1: Ευαισθησία της δοκιμασίας και τα προφίλ που αποκτήθηκαν

Ευαισθησία της δοκιμασίας: **Se = 97.3% σε σχέση με το γένος *Echinococcus***
Se = 98% σε σχέση με τα είδη *E. granulosus*
Se = 96.7% σε σχέση με τα είδη *E. multilocularis*

Διάγνωση των ειδών: *E. granulosus* έναντι *E. multilocularis*:

Ο Πίνακας 1 παραπάνω επιτρέπει τον υπολογισμό της ικανότητας διάκρισης μεταξύ των δύο ειδών σε ποσοστό **67.6%** (P1 + P2 + P3 προφίλ).

Ειδικότητα (Sp) – Διασταυρούμενες αντιδράσεις

147 δείγματα ορού, που αντιστοιχούν σε 147 ασθενείς, ελέγχθηκαν με το **ECHINOCOCCUS WB IgG kit** από τα δύο προηγούμενα εργαστήρια.

Συμπεριλήφθηκαν δείγματα ορού από ασθενείς που πάσχουν από τα ακόλουθα: neuro-cysticercosis *Taenia solium* (42), *Schistosoma sp.* (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) και τις ακόλουθες αυτοάνοσες ασθένειες: RF rheumatoid factor (8), ANA Anti-Nuclear Antibodies (12).

139 οροί είναι αρνητικοί, επιδεικνύοντας **94.6% ειδικότητα** σε αυτόν τον πληθυσμό.

Οι 8 διασταυρούμενες αντιδράσεις παρατηρήθηκαν αποκλειστικά στα εξής:

- Cysticercosis: παρουσία απομονωμένης ζώνης στα 7 kDa σε 5/42 ασθενείς.
- Αυτοάνοσες ασθένειες: παρουσία απομονωμένης στενής ζώνης στα 28 kDa σε 1/8 ασθενείς (FR+) και 2/12 ANA+ ασθενείς.

Σημείωση: Fasciolosis: η παρουσία μιας απομονωμένης πολύ μεγάλης ζώνης (25-30 kDa) βρέθηκε σε 4/10 εξετασθέντες ασθενείς, αλλά δεν μπορεί να συγχέεται με τη συγκεκριμένη ζώνη 26-28.

Συμπέρασμα

Η συσχέτιση μεταξύ WB Echinococcus και της κλινικής κατάστασης είναι εξαιρετική.

Ευαισθησία Se = 97.3% [CI95 91.7 - 99.3%]

Ειδικότητα Sp = 94.6% [CI95 89.2 - 97.4%]

Επιπλέον, το WB επιτρέπει τη διαφοροποιημένη διάγνωση θετικών δειγμάτων με πολύ συγκεκριμένο προφίλ για *E. multilocularis* και *E. granulosus*.

E. multilocularis προφίλ (προφίλ P3)

Ευαισθησία = 67.2% [CI95 53.9-78.4%] Ειδικότητα σε σχέση με *E. granulosus* = 100% [91.1 - 100%].

E. granulosus προφίλ (προφίλ P1 and P2)

Ευαισθησία = 68% [CI95 53.2 - 80.1%] Ειδικότητα σε σχέση με *E. multilocularis* = 100% [92.6 - 100%]. **Σημείωση:** Το προφίλ P1 ωστόσο βρέθηκε σε 5 περιπτώσεις (από τις 42) cysticercosis.

Τα διαστήματα εμπιστοσύνης υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Wilson με διόρθωση συνέχειας.

Αναπαραγωγικότητα

Εξετάστηκε η αναπαραγωγικότητα εντός σειρών και εντός παρτίδων. Και στις δύο περιπτώσεις, η συσχέτιση ορού προς ορού σε σχέση με τις ειδικές ζώνες είναι εξαιρετική.

Παρεμβολές

Αν και δεν παρατηρήθηκε καμία ιδιαίτερη διασταυρούμενη αντίδραση με αιμολυμένα, ικτερικά ή λιπιδικά δείγματα ορού, συνιστάται η προσεκτική ερμηνεία των αποτελεσμάτων από τη χρήση τέτοιων δειγμάτων.

ΕΠΙΛΥΣΗ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

«Οι ζώνες είναι αχνές με μικρή αντίθεση»: Ορισμένα δείγματα ορού με χαμηλές συγκεντρώσεις αντισωμάτων μπορεί να δώσουν τέτοια αποτελέσματα.

«Σκιασμένες περιοχές είναι ορατές, περισσότερο ή λιγότερο χρωματισμένες, ελαφρώς διαχεόμενες»: Το strip δεν ήταν πλήρως βυθισμένο σε κάποιο από τα αντιδραστήρια και δεν επώαστηκε σωστά σε όλο το μήκος του. Μπορεί να υπάρχουν κηλίδες στο σημείο όπου το δείγμα εναποτέθηκε, εάν η πλάκα δεν ανακινήθηκε μετά τη διανομή του δείγματος.

«Ο θόρυβος του υποβάθρου είναι σημαντικός, κάνοντας την ανάγνωση πολύ δύσκολη»: Οι καθαρισμοί ήταν ανεπαρκείς ή η τελευταία επώαση ήταν πολύ μεγάλη. Διασφαλίστε τις σωστές τεχνικές εκτέλεσης της

δοκιμασίας, τηρείτε τους χρόνους πλυσίματος και εξασφαλίστε την ποιότητα του νερού. Μειώστε τον χρόνο της τελευταίας επώασης. Με εξαίρεση, ορισμένα δείγματα ορού μπορεί να αντιδρούν μη ειδικά. Σε αυτήν την περίπτωση, το αποτέλεσμα του immunoblot δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

Αυτός ο μη ειδικός θόρυβος στο υπόβαθρο μπορεί να επηρεάσει μόνο ένα μέρος του strip, κάνοντας το αποτέλεσμα μη αναγνώσιμο μόνο για αυτό το μέρος.

«Εμφανίζεται ίζημα στο διάλυμα κατά το τελευταίο στάδιο ανάπτυξης»: Το υπόστρωμα μπορεί να καθιζάνει μερικώς (μαύρα σωματίδια) στο διάλυμα κατά το τέλος της ανάπτυξης. Αυτό το φαινόμενο δεν αλλοιώνει την ποιότητα της ανάπτυξης, η οποία πρέπει να συνεχιστεί κανονικά. Η τελευταία πλύση με απεσταγμένο νερό εξαλείφει τα πιθανά στερεά σωματίδια που ενδέχεται να υπάρχουν.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 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.
- Liance 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.

ΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ ΕΝΗΜΕΡΩΣΗΣ – Παρακαλώ διαβάστε προσεκτικά

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ	ΕΚΔΟΧΗ	ΣΥΝΟΨΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ
30/11/2022	Vs16	Νέα διεύθυνση
07/12/2022	Vs17	R6 χωρίς NaN3. Strip που προσδιορίζεται με το γράμμα D. Πιθανή χρήση αντιδραστηρίων από διαφορετικές παρτίδες.



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