

# ECHINOCOCCUS CE



## Western Blot IgG

*In vitro* diagnosztika Immunoblot vizsgálat  
Félautomatizált / manuális technika

#ECH-WB24G: 24 vizsgálatra

#ECH-WB12G: 12 vizsgálatra

#ECH-WB96G: 96 vizsgálatra

## HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

További információt és használati utasítást az Ön nyelvén a  
[www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)

## RENDELTESSZERŰ HASZNÁLAT

Az **ECHINOCOCCUS Western Blot (WB) IgG** egy egyszer használatos kvalitatív szerológiai módszer, mely az alveoláris echinococcosis és a hidatidózis meghatározására, valamint a klasszikus szűrővizsgálat során kapott pozitív és kétes eredmények megerősítésére szolgál.

## A VIZSGÁLAT ELVE

### Western Blot technika

Az *Echinococcus multilocularis* larvák antigénjeit elektroforézis segítségével elkülönítik úgy, hogy az elektroblottolás során a 24 részre vágható (1-24-ig elnevezett) nitrocellulóz membrán (más néven transzfer) felszínéhez kötődik.

### A vizsgálat lefolytatása

Minden egyes beteganyagot külön tesztcsíkon vizsgálunk. A mintában potenciálisan jelen lévő specifikus ellenanyagok szelektív módon kapcsolódnak az antigénekhez. Az alkalikus-foszfátáz anti-humán IgG konjugátum azután kötődik magához a kikötődött ellenanyagokhoz. Végezeül, az immunkomplexek reakcióba lépnek a szubsztráttal. Az antigéneket felismert mintában jelen lévő IgG specifikus ellenanyagok a tesztcsíkon lila transzverzális sávokként jelennek meg.

## A KIT ÁLTAL BIZTOSÍTOTT REAGENSEK ÉS ANYAGOK

Alapértelmezés: 24vizsgálatra elegendő tesztcsomag (#ECH-WB24G)

dőlt: 12 vizsgálatra elegendő tesztcsomag (#ECH-WB12G) félkövér: 96 vizsgálatra elegendő tesztcsomag (#ECH-WB96G).

Azonosító	Mennyiség	Leírás	Összetétel
R1	1	24 TESZTCSÍKOT tartalmazó csomag (12, <b>4x24</b> ): előre bemetszett és színes standardokkal (Mindegyik csomag és mindegyik transzfer egyedi gyártási számmal ellátott)	Érzékenyített nitrocellulóz. Színes Molekuláris súlymarkerek (kDa): Kék: 250, Kék: 150, Kék: 100, Rózsaszín: 75, Kék: 50, Zöld: 37, Rózsaszín: 25, Kék: 20, Kék: 15, Sárga: 10.
R2	1	30ml-es (30, <b>125</b> ) MINTA PUFFER (Használatra kész – rózsaszín oldat).	Puffer + felületaktív anyag.
R3	1	30ml-es (30, <b>2x60</b> ) ANTI IgG KONJUGÁTUM (Használatra kész – kék oldat).	Puffer + anti-humán IgG poliklonális kecske szérum alkalikus-foszfátázzal konjugálva + NaN3 (<0.1%) + stabilizátorok
R5	1	30ml-es (30, <b>125</b> ) SZUBSZTRÁT (Használatra kész – barna oldat).	Puffer + NBT + BCIP + stabilizátorok
R6	1	60ml-es (60, <b>250</b> ) <i>MOSÓ KONCENTRÁTUM</i> 10X PUFFER (Desztillált vízben 10-szeresre kell hígítani – színtelen oldat).	Puffer + felületaktív anyag.
R10	1	200µl mennyiségű (200, <b>2x200</b> ) of POZITÍV KONTROL SZÉRUM (Használat ,n ,nra kész – piros kupak)	Puffer + poolozott humán <i>E. multilocularis</i> pozitív szérum + NaN3 (<0.1%) + stabilizátorok

**R1:** Az egyes szalagszámok előtti betű a paraméterre jellemző.

Az **R2, R3, R5 és R6** azonosítójú reagensek az összes kithoz általánosak és egyedi gyártási számmal ellátottak, mely csak a gyártási időpontjuktól függ. **Ajánlott többparaméteres vizsgálatot végezni (lásd az LDBIO immunoblot tartományt) a kinyitott ampullák számának korlátozása és a jobb minőség-ellenőrzés biztosítása érdekében.**

Az **R10**-t immunoblotban kalibrálják egy referencia tétel szerint, és csak erre a technikára szolgál.

R3, R10 (NaN<sub>3</sub>): EUH 032 - Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek.

EUH 210 Kérésre biztonsági adatlap kapható valamint a [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com) weboldalon.

## A KIT ÁLTAL NEM BIZTOSÍTOTT, DE SZÜKSÉGES REAGENSEK ÉS ANYAGOK

- Többcsatornás polipropilén inkubációs tálcák a mini-blottokhoz (#WBPP-08 vagy ezzel megegyező).
- Keverő/rázató laboratóriumi eszköz az immunoblottokhoz, a folyadékokhoz szükséges vákumrendszer (#WBPP-08 csövek, melyek egyszerűen elforgatással üríthetőek).
- A mintákhoz szükséges csövek és további műanyagárúk, szakszerű cilinderek, és felfogó tartályok. Automatikus pipetták, mikropipetták és eldobható, egyszer használatos hegyek (25µl, 1.2 ml és 2 ml térfogatúak).
- Desztillált vagy ionmentesített víz. Abszorbens papír (például Whatman szűrőlapok), átlátszó ragasztószalag.
- Kesztyű, csipeszek a tesztsíkok kezeléséhez, vágóeszköz vagy szike, lapos átlátszó vonalzó.

**Megjegyzés:** A reagenseink automatizált immunoblot processzorokban használhatóak. **Amennyiben másik gyártó reagenseivel működtetik a processzort, úgy figyeljen az ebből adódó lehetséges kémiai kontamináció** (ismert példa: TWEEN 20 oldattal történő szennyezés) **és bakteriális kontamináció elkerülésére.** Tartsa az injekciós üvegeket a proceszszorhoz. A vizsgálati folyamatot követően, ne tegye vissza a felhasznált reagenseket az eredeti injekciós üvegbe.

## TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

2-8°C között tárolandó. A kitben lévő reagensek a külső dobozon és a csöveken feltüntetett lejárati ideig stabilak. Ne használjon szennyezett vagy zavaros reagenseket. A mosó puffer 1/10-es hígítása 2 hónapig stabil +2 és +8°C közötti hőmérsékleten és egy hétig szobahőmérsékleten.

## ÓVINTÉZKEDESEK

### Biztonság

- Kizárólag *in vitro* diagnosztikai célú felhasználásra. Csak professzionális használatra. Csak műszakilag képzett személyzet számára. Kezelje a Jó Laboratóriumi Gyakorlatnak (GLP) megfelelően és tekintse a reagenseket és bármely mintát potenciálisan fertőzőnek és/vagy toxikusnak.
- Viseljen laboratóriumi köpenyt, gumikesztyűt és védőszemüveget; ne egyen, ne igyon és ne dohányozzon a laboratóriumban. Ne pipettázzon szájjal.
- A pozitív kontroll egy emberi eredetű szérum, amelyet inaktiváltak HIV 1 és 2, hepatitis B és hepatitis C vírusok ellen. Bár továbbra is potenciálisan fertőzőtt terméknek kell tekinteni.
- NBT és BCIP keveréket tartalmaz a szubsztrát, bőrrel való és nyálkahártyán keresztüli érintkezés, valamint belégzés során toxikus.
- A reagensek nátrium-azidot tartalmaznak, mely ólommal és rézzel robbanékony fémsókat képezhetnek. A kiömlött anyagot öblítse le vízzel.
- A kidobandó hulladékot (minták, pipettahegyek, csövek, mosófolyadék, felhasznált reagensek...) a munkahelyi szabályozásoknak és az országban érvényes előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.
- Minden súlyos eseményről nyilatkozatot kell benyújtani a gyártónak és az illetékes hatóságnak.

### Óvintézkedések

- Olvassa el és értelmezze az eredményeket közvetlen fehér fény alatt.
- Célszerű az összes reagenseket ugyanabból a tételből használni. Különböző tételek használata esetén biztosítani kell a nyomon követhetőséget.
- Használja a tesztsíkokat a számozott sorrendben. Ne keverje a különböző gyártási számú tesztsíkokat, használja a transzfereket egymás után. A vizsgálat előtt hozzon létre egy speciális beállítási munkatervet.
- Ne érjen a tesztsíkokhoz az ujjjaival, használjon csipeszt a kezelésükhöz.
- A reagenseket használatuk előtt alaposan össze kell keverni, különösen a koncentrált mosópuffert.
- Használat után zárja be a flaskákat, ne használja, ha egy anyag véletlenül bekerült a reagensbe. Ne használjon reagenst olyan injekciós flaskából, amely a szivárgás jeleit mutatja. Ne használja a zavaros vagy kicsapódott oldatot.
- Használjon kizárólag eldobható, egyszer használatos pipettahegyeket. Kerülje a csatornák közötti kontaminációt. Ügyeljen arra, hogy ne keletkezzen a pipettahegyek végeiben hab vagy buborék (a reagens flaskák bakteriális kontaminációja).
- Az ikbuációs tálcákat csak desztillált vízzel tisztítsa (soha ne használjon detergenset vagy hipót).
- A minta kihagyása vagy a minta nem megfelelő térfogata negatívvá vagy pozitívvá teheti a vizsgálat eredményét, függetlenül annak tényleges állapotától.

### MINTAVETEL

Aszeptikus körülmények között a mintákat száraz csövekbe gyűjtjük. Legalább 25µl szérum szükséges.

Tartsa a mintákat feldolgozásukig 2-8°C közötti hőmérsékleten. Ha szükséges a minták tárolása több mint egy héten át, akkor fagyassza a mintákat -20 ± 5°-os hőmérsékleten. Ne használja a kontaminálódott mintákat. Kerülje a minták ismétlődő olvasztását fagyasztását.

Habar a hemolizált, ikterikus vagy lipides szérumok esetében nem tapasztaltunk különös keresztreakciót, ajánlatos az ilyen minták feldolgozásakor a kapott eredményeket körültekintően értelmezni.

### REAGENSEK ELOKESZITÉSE

**Mosó puffer:** 4 vizsgálatra elegendő mennyiséghez egy tiszta csőben higítsa meg a 10X Mosó Koncentrátumot (R6) úgy, hogy 10ml-jét 90ml desztillált vagy ionmentes vízhez adja. Óvatosan keverje össze a hígított puffert.

## VIZSGÁLATI ELJÁRÁS

*Nota Bene:* Ajánlott többparaméteres vizsgálatot végezni (lásd az LDBIO immunoblot tartományt) a kinyitott ampullák számának korlátozása és a jobb minőség-ellenőrzés biztosítása érdekében.

1. Készítse el a minták és a pozitív kontroll (C+; **R10**) beállítási tervét.

Kizárólag ezen kontroll felhasználásával lehet technikailag validálni a vizsgálatot, és az adott sorozatszám alapján azonosítani kell a kialakuló konkrét sávokat. A pozitív kontroll (C+) tesztcsík nem használható arra, hogy egy másik sorozatszámú blotból származó tesztcsíkok eredményeit kiértékelje.

2. Vágja le a szükséges számú tesztcsíkot (R1) szike és tiszta és száraz, lapos átlátszó vonalzó segítségével, a kék pozícionáló vonalakat hagyja meg a tesztcsíkokon. A tesztcsíkokra nyomja rá szorosan a vonalzót és vágja le a tesztcsík oldala mentét a csíkokat (a számok a vonalzón keresztül láthatóak).
3. Az elkészített beállítási tervnek megfelelően a mintatartó tálca egyes csatornáiba osszon el 1,2 ml minta puffert (R2).
4. A számozási sorrendnek megfelelően helyezze el a tesztcsíkokat a mintatartó tálca csatornáiba úgy, hogy a tesztcsíkok tetején látható számok felfelé álljanak: Hagyja, hogy a tesztcsíkok felülete körülbelül 2 percig rehidratálódjon a minta pufferben, majd óvatosan ütögessen meg a tálcat, hogy teljesen elmerüljenek a pufferben.
5. A minták és a pozitív kontroll kiosztása: a beállítási munkaterv alapján a mintákból és a kontrollból a megfelelő helyekre 25µl-t mérjünk a mintatartó tálca csatornáiba. Minden bemérésnél alaposan ütögessen meg a tálcat. Az utolsó bemérés követően a tesztcsík tároló tálcat helyezze egy keverő/rázató berendezésre. Majd rázatva **inkubálja 90±5 percig**, 20-26 °C közötti hőmérsékleten.
6. Mosási lépés: Üritse ki a csatornák tartalmát vagy Pasteur pipetta segítségével vagy pedig az inkubációs tálca felfordításával. A tálca egyes csatornáiba 2-3ml hígított mosópuffert pipettázzon. Inkubálja a keverő/rázató eszközön a tesztcsíkokat 3 percig. Ismétlje meg az előző folyamatot kétszer, majd ürítse ki a csatornák tartalmait. Bizonyosodjon meg affelől, hogy a tesztcsíkok nem fordultak meg ezen lépések alatt.
7. Adjon 1,2ml anti-IgG konjugátumot (**R3**) minden egyes csatornába. Helyezze a tálcat a keverő/rázató eszközre. **Inkubálja 60±5 percig**, 20-26 °C közötti hőmérsékleten.
8. Mosási lépés: Ismétlje meg a 6. lépést.
9. Adjon 1,2 ml NBT/BCIP szubsztrát keveréket (**R5**) minden egyes csatornához. Helyezze a tálcat a keverő/rázató eszközre és most már védje meg a tesztcsíkokat a közvetlen napfénytől. Majd így **inkubálja 60±5 percig**, 20-26 °C közötti hőmérsékleten a csíkokat.

Az inkubációs paramétertől függetlenül folyamatosan figyelje a szín fejlődését. A színfejlődés leállítható, ha a tesztcsík háttérszíne sötétebbé válik, ami megnehezíti a leolvasást (a mosási lépések minősége alapvetően befolyásolja a háttérszín). Ne feledje, hogy a tesztcsíkok kivilágosodnak, ha megszáradtak.

10. Állítsa le a reakciót a szubsztrát vagy Pasteur pipettával történő leszívásával vagy az inkubációs kád felfordításával, majd 2ml desztillált vizet adjon minden egyes csatornába. Ismétlje meg ezt az utolsó mosási lépést még egyszer.
11. Tesztcsíkok megszáritása: A még vízzel telített csatornákból vegye ki csipesz segítségével a tesztcsíkokat, majd jól látható módon, a számozott végükkel helyezze el Whatman abszorbens szűrőpapírra. Hagyja megszáradni a tesztcsíkokat a levegőn.
12. Tárolás: Tegye át a megszáradt tesztcsíkokat egy papírlapra, amit az archiváláshoz fog használni. Igazítsa a tesztcsíkokat a pozícionáló vonalak egymáshoz illesztésével. Tartsa tesztcsíkokat a lapos vonalzó segítségével ebben a helyzetben, majd átlátszó ragasztószalaggal ragassza a tesztcsíkokat a laphoz a felső részüknél fogva.

A megfelelő kiértékelés érdekében, a tesztcsíkokat a számsorrendben kell egymáshoz igazítani, egymástól legfeljebb néhány milliméter távolságra. Az egymástól távol eső tesztcsíkok összehasonlítása nem megbízható a kiértékelés során (például 2. a 15. tesztcsíkhöz képest). **Nagyon kerülendő** (fals eredményt eredményez) azon tesztcsíkok összehasonlítása, melyek különböző kitekből (tesztcsíkok eltérő gyártási számúak) származnak.

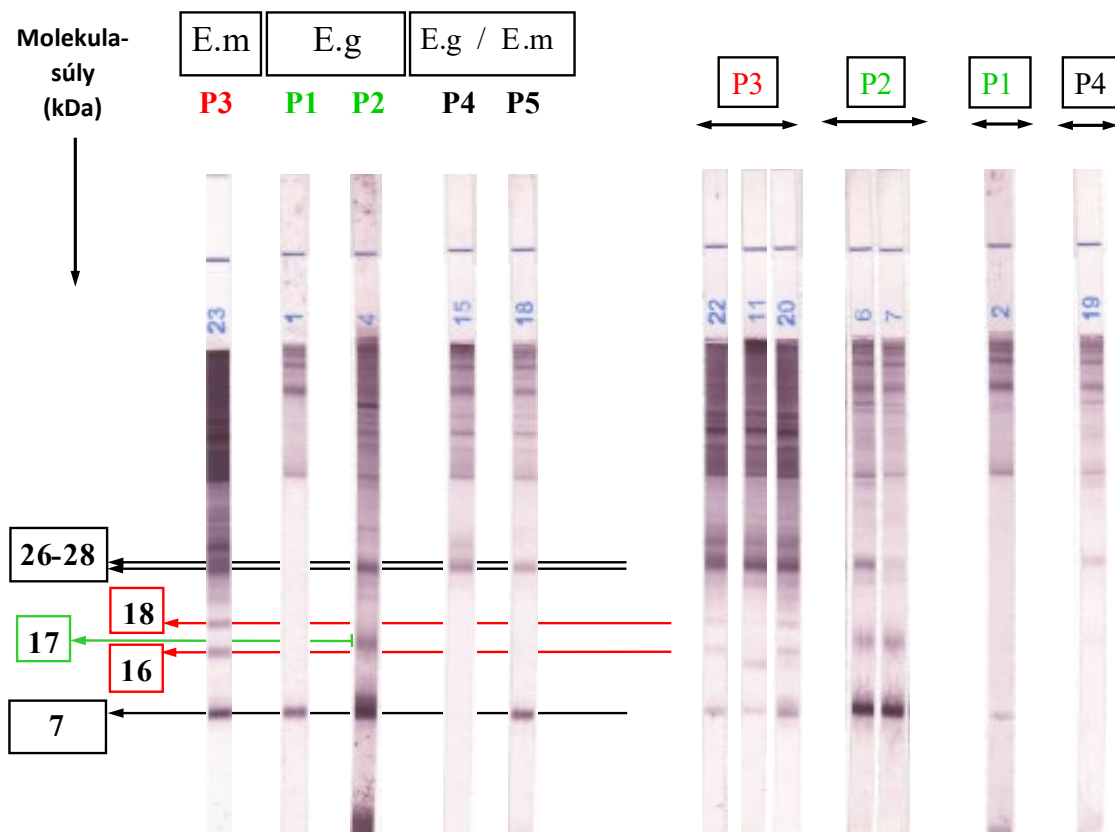
## MINOSEG-ELLENORZES ES KIERTKELES

A kitez biztosított szérum kontrollt (R10) szisztematikusan be kell állítani minden immunoblot vizsgálatkor. Megmutatja a tipikus profilt és lehetővé teszi a vizsgálat megfelelő lefolyásának technikai validálását (a tesztcsíkon a sávoknak nagyon tisztán olvashatónak kell lenniük), és bekalibrálja pontosan a pozíciót és a specifikus sávokat, így lehetővé téve a tesztcsíkok eredményeinek kiértékelését a hasonló transzferhez (hasonló gyártási számú) képest.

*Nota Bene:* A pozitív kontroll (R10) profilja az alkalmazott reagensek tételszámától függően változhat. A megfelelő képek a [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com) weboldalon található példaként.

### A sávok jellemzői

- A leolvasási terület a tesztcsík alsó felében található, a 7 és 26-28kDa között. A 26-28kDa-nak elnevezett sáv különféle változatban jelenhet meg: egyetlen keskeny sávban (26 vagy 28kDa-nál), kettős sávként (26 és 28 kDa) vagy egy nagy sávként, amely az egész területet felöleli 26-tól 28 kDa-ig.
- Az extrém 7 és 26-28 kDa sávok *Echinococcus* genus diagnosztizálására használják (lásd alább: I. kiértékelés).
- A 7 és 26-28kDa között lévő közbülső sávokat a *granulosus* vagy a *multilocularis* fajok diagnosztizálására használják (lásd alább: II. kiértékelés).



### 1. ábra: Példa a pozitív és negatív eredményekre

A profilok példaként szerepelnek. A csíkokat az "03023" tételből származó paraméterre jellemző "D" betűvel jelöltük.

### Kiértékelés

- A genus diagnosztizálása:
  - Az extrém 7 és/vagy 26-28 kDa sávok jelenléte
- A fajok diagnosztizálása:
  - **P1** vagy **P2** profil: *Echinococcus granulosus* (E.g)
  - **P3** profil: *Echinococcus multilocularis* (E.m)
  - **P4** vagy **P5** profil: *E. multilocularis* vagy *E. granulosus*

## I. Kiértékelés

### *Echinococcus* genus diagnosztizálása:

Keresse meg a 7 és/vagy 26-28 kDa sávok jelenlétét minden egyes vizsgált minta esetén a fent leírt kalibrációs eszköz segítségével (ezek a sávok jellemzőek és általában nagyon könnyen megtalálhatók).

Az extrém 7 és/vagy 26-28 kDa sávok jelenléte szükséges ahhoz, hogy a vizsgálatot pozitívnak lehessen értelmezni, és hogy arra a következtetésre juthassunk, hogy a vizsgált mintában *Echinococcus* IgG ellenanyagok jelen vannak.

## II. Kiértékelés

A fajok differenciál diagnosztikája *E. granulosus* és *E. multilocularis*:

Ezt úgy végezzük, hogy a közbenső területen az egyik vagy a másik faj egy-egy sávját keressük a 7 és 26 kDa közötti tartományban.

- Mindkét faj közös sávjai: 12, 15, 20, 24 kDa
- Csak az *E. multilocularis* megjelenő keskeny sávok: 16, 17, 18 kDa
- Csak az *E. granulosus* fajnál megjelenő egy vastag sáv 17 kDa-nál.

5 különböző profil figyelhető meg.

- P1, P2 és P3 profilok (az esetek 70%-ban) faj diagnosztikája:

P1 PROFIL: *Echinococcus granulosus*  
Csak az elkülönült 7 kDa-os sáv.

P2 PROFIL: *Echinococcus granulosus*  
7 kDa sáv és egy vastag homályos 17 kDa sáv.  
(Megjegyzés: a 26-28 kDa sáv nagyon gyakran jelen van.)

P3 PROFIL: *Echinococcus multilocularis*  
26-28 sáv és vékony 16 és/vagy 18 kDa sávok  
(Megjegyzés: más sávok, mint a 7, 12, 15, 17, 20 vagy 24 kDa sávok nagyon gyakran megjelennek.)

- Az utolsó 2 profil, a P4 és a P5 (az esetek 30%-ban fordul elő), nem különbözteti meg a 2 fajt, az *E. granulosus* és az *E. multilocularis* fajokat.

P4 PROFIL:  
Csak egy körülhatárolt 26-28 kDa-os sáv. NINCS közbülső sáv

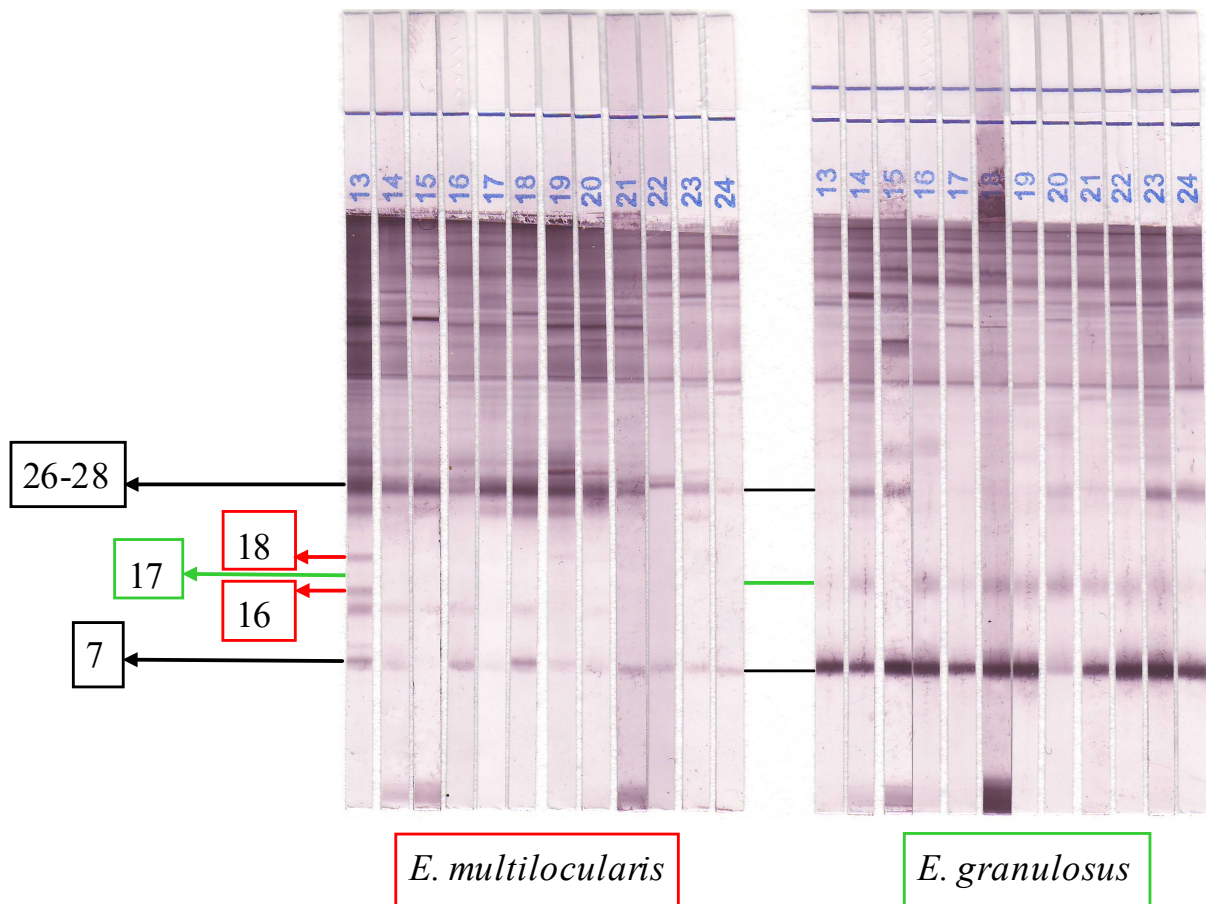
P5 PROFIL:  
a 7 és a 26-28 kDa sávok figyelhetőek csak meg NINCS közbülső sáv

megjegyzés 1: Egy vagy több közbülső sáv (12, 15, 16, 17, 18, 20 vagy 24 kDa) jól körülhatárolt jelenléte nem tekinthető specifikusnak. Ezek a sávok az echinococcosis esetében soha nem találhatjuk jól elkülönültnek, de mindig a 7 kDa és/vagy a 26-28 kDa sávok megjelenéséhez kapcsolódnak.

megjegyzés 2: A fenti és a 7-28 kDa terület alatti további ritka sávok gyakran megjelenhetnek. Ezeket nem szabad felhasználni a vizsgálat értelmezése kapcsán.

megjegyzés 3: Kivételes esetben, a 16 kDa-os sáv az *E. multilocularis* által fertőzött betegnél a normálhoz képest vastagabb sávként jelenhet meg. Legyen óvatos, hogy ezt a sávot ne keverje össze az *E. granulosus* fajra jellemző nagy 17kDa-os sávval.

megjegyzés 4: A közbülső sávok kevésbé intenzíven jelennek meg, mint a 7 és a 26-28 kDa sávok. A megfelelő sáv kifejlődés érdekében érdemes a tesztcsíkokat 60 percig a szubsztrát oldatban inkubálni. Ne állítsa le a reakciót túl hamar.



2. **ábra:** További példák az *E. multilocularis* és *E. granulosus* fajokkal fertőzött betegekből származó minták pozitív immunblot eredményeire

A profilok példaként szerepelnek. A csíkokat az "03023" tételből származó paraméterre jellemző "D" betűvel jelöltük.

Speciálisan gyengén pozitív mintákat válogattak ki: az összes *E. m* profil hiányos (kivétel az első, 13. számú tesztcsík).

Érdemes megjegyezni a profilok különbözőségét, amely rendszerint a következők minden egyes faj esetében:

*E. multilocularis*: A 26-28 kDa sáv gyakran kétszeres vastagságú sávként jelenik meg és ez a legintenzívebb.

*E. granulosus*: Az előzőhöz képest fordítva, pont a legintenzívebb sáv a 7 kDa-os sáv.

De ez a szabály nem teljes érvényű (például *E. m* 24. számú sávja, vagy az *E. g* 20. számú sávja)

Az eredmények validálásához mindig hasonlítsa össze az egyes minták immunblotjának profilját az R10 pozitív kontroll profiljával. A sávok megjelenése, helyzete fontos a vizsgálat kiértékelésekor.

## A KIT KORLATJAI

- A fertőző betegség diagnózisát egyetlen vizsgálati eredmény alapján nem lehet felállítani.
- A szerológiai eredményeket az elérhető információkkal (például járványügyi, klinikai, képkötői, biológiai stb.) együtt kell értelmezni és a diagnózist felállítani. Ezek nem használhatók a diagnózis alapjául pusztán a pozitivitásuk alapján.



## TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK (lásd az irodalmi hivatkozásokat)

### Szenzitivitás (Se)

Egy többcentrikus tanulmány került elvégzésre két független, szakmai laboratóriumban, ahol 111 betegből származó vérmintát (bizonyítottan 50 hidatidózisos és 61 alveoláris echinococcosis beteg) vizsgáltak. Az eredményeket a következő táblázat foglalja magában:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: kapott profilok					
	Neg	P1	P2	P3	P4	P5
Hidatidózis (n=50)	1	12	22	0	1	14
Alveoláris echinococcosis (n=61)	2	0	0	41	7	11
Teljes (n=111)	3	12	22	41	8	25

**1. táblázat:** A vizsgálat érzékenysége és a kapott profilok

A vizsgálat Szenzitivitás:

**Se = 97.3% az *Echinococcus* genus tekintetében**

**Se = 98% az *E. granulosus* faj tekintetében**

**Se = 96.7 % az *E. multilocularis* faj tekintetében**

A fajok diagnózisa: *E. granulosus* és *E. multilocularis*

A fenti 1. táblázat lehetővé teszi a két faj **67,6%-os** diszkrimináció kiszámítását (P1 + P2 + P3 profilok).

### Specifitás–Keresztreakció

**147** betegből származó szérum mintát a fent megnevezett két laboratórium vizsgálta az **ECHINOCOCCUS WB IgG** kit felhasználásával.

A beteg szérummintái a következőket tartalmazták: neuro-cysticercosis *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) és a következő auto-immun betegségek: RF rheumatoid faktor (8), ANA Anti-Nukleáris Ellenanyagok (12).

**139** szérum adódott negatívnak, mutatva a **94.6%-os** specifitást a vizsgált populációban.

A 8 keresztreakciót kizárólag a következők részeként figyelték meg:

- cysticercosis: a jól elkülönült 7 kDa sáv jelenléte 42-ből 5 betegnél.
- autoimmun betegségek: A 28 kDa-nál egy jól elkülönült vékony sáv az 8-ból 1 betegeknél (FR+) és 12 ANA+ betegekből 2-nél.

**Megjegyzés:** Fasciolosis: Jól elkülöníthető nagyon nagy sáv (25-30 kDa) jelenléte megtalálható volt 10 vizsgált betegből 4-nél, de nem lehet ezt összetéveszteni a 26-28kDa-os sávval.

### Következtetés

A WB Echinococcus és a klinikai állapot közötti összefüggés kiváló.

**Szenzitivitás (Se) = 97,3% [CI95 91,7 - 99,3%]**

**Specifitás (Sp) = 94,6% [CI95 89,2 - 97,4%]**

Ezenkívül a WB lehetővé teszi az *E. multilocularis* és az *E. granulosus* nagyon specifikus profilú pozitív minták differenciáldiagnózisát.

*E. multilocularis* profil (P3 profil)

Érzékenység = 67,2% [CI95 53,9-78,4%] Speticitás az *E. granulosus* hoz képest = 100% [91,1-100%].

*E. granulosus* profil (P1 és P2 profilok)

Érzékenység = 68% [CI95 53,2-80,1%] Speticitás az *E. multilocularis* hoz képest = 100% [92,6-100%]. Megjegyzés: A

P1 profilt azonban 5 esetben (42-ből) találták meg ciszticercózisban.

A konfidencia intervallumokat a Wilson-módszer szerint számolják, folytonossági korrekcióval.

### Reprodukálhatóság

Megvizsgálták a sorozatok közötti és a lot-ok közötti reprodukálhatóságot. Mindkét esetben, a szérumszám korreláció a specifikus sávok vonatkozásában kiválóan bizonyult.

### Interferencia

Habar a hemolizált, ikterikus vagy lipides szérumok esetében nem tapasztaltunk különös keresztreakciót, ajánlatos az ilyen minták feldolgozásakor a kapott eredményeket körültekintően értelmezni.

## HIBAELHÁRÍTÁS

**"A sávok kevésbé kontrasztosak"**: Bizonyos alacsony ellenanyagtartalmú szérumok ilyen eredményeket adhatnak.

**"Árnyékolt területek láthatók, többé-kevésbé színesek, egyhén diffúzak"**: A tesztcsík nem volt teljesen egyik reagensbe alámerítve és nem volt a leírtaknak megfelelően (teljes időhossz) inkubálva. Foltok megjelenhetnek ott is, ahol a minta rá lett téve a tesztcsíkra, ha a tálca nem volt rázatva a reagensek adagolását követően.

**"A háttérzaj nagyon jelentős, így a tesztcsík leolvasása nagyon nehézkes"**: A mosás elégtelen volt, vagy az utolsó inkubáció túl sokáig tartott. Ügyeljen a vizsgálat megfelelően történő kivitelezésére, tartsa be a mosási időket, és biztosítsa a víz minőségét. Csökkentse le az utolsó inkubáció idejét.

Kivételes esetben, bizonyos szérumok nem specifikus módon reagálhatnak. Ezek után az immunoblot eredményt nem lehet kiértékelésre felhasználni.

Ez a nem-specifikus háttérzaj magába foglalhatja a tesztcsík egy részét, így az eredmények az adott terület számára értelmezhetetlen.

**"A színfejlődési utolsó lépésben az oldatban csapadék jelenik meg"**: a szubsztrát valójában részlegesen kicsapódik (fekete pelyhek) a pufferben a színfejlődés végén. Ez a jelenség nem változtatja meg a színfejlődés minőségét, melyet szükséges tovább folytatni. Az utolsó desztillált vizes mosás eltávolítja ezen szilárd részecskéket.

## BIBLIOGRÁFIA

- 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 Seronegativity 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.

## ÉRTESÍTÉS A FRISSÍTÉSE - Olvassa el figyelmesen

KIADÁSI DÁTUM	VÁLTOZAT	MODIFIKÁCIÓS ÖSSZEFOGLALÓ
30/11/2022	Vs16	Új cím
07/12/2022	Vs17	R6 NaN3 nélkül. D betűvel jelölt szalag. Különböző tételekből származó reagensek lehetséges használata.



NF EN ISO 13485

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