

LEISHMANIA **CE**

Western Blot IgG



In vitro diagnosztika Immunoblot vizsgálat
Félautomatizált / manuális technika

#LES-WB24G: 24 vizsgálatra

#LES-WB12G: 12 vizsgálatra

#LES-WB96G: 96 vizsgálatra

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

További információt és használati utasítást az Ön nyelvén a
www.ldbiodiagnostics.com

Rendeltetésszerű használat

Az **LEISHMANIA Western Blot (WB) IgG** egy olyan egyszer használatos kvalitatív szerológiai módszer, mely a leishmaniasis meghatározására, valamint a klasszikus szűrővizsgálat során kapott pozitív és kétes eredmények megerősítésére szolgál.

A vizsgálat elve

Western Blot technika

Az *Leishmania infantum* 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 (#LES-WB24G)

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

Azonosító	Mennyiség	Leírás	Összetétel
R1	1	24 TESZTCSÍKOT tartalmazó csomag (12, 4x24): 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, 125) MINTA PUFFER (Használatra kész – rózsaszín oldat).	Puffer + felületaktív anyag.
R3	1	30ml-es (30, 2x60) ANTI IgG KONJUGÁTUM (Használatra kész – kék oldat).	Puffer + anti-humán IgG poliklonális kecske szérum alkalikus-foszfátázzal konjugáltatva + NaN3 (<0.1%) + stabilizátorok
R5	1	30ml-es (30, 125) SZUBSZTRÁT (Használatra kész – barna oldat).	Puffer + NBT + BCIP + stabilizátorok
R6	1	60ml-es (60, 250) <i>MOSÓ KONCENTRÁTUM</i> 10X PUFFER (Desztillált vízben 10-szeresre kell hígítani – színtelen oldat).	Puffer + felületaktív anyag.
R10	1	200µl mennyiségű (200, 2x200) of POZITÍV KONTROL SZÉRUM (Használatra kész – piros kupak)	Puffer + poolozott humán <i>Leishmania</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 (NaN3): EUH 032 - Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek.

EUH 210 Kérésre biztonsági adatlap kapható valamint a 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 tesztcsíkok 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 processzorhoz. 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 fertőző 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 fém sókat 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 tesztcsíkokat a számozott sorrendben. Ne keverje a különböző gyártási számú tesztcsíkokat, használja a transzfereket egymás után. A vizsgálat előtt hozzon létre egy speciális beállítási munkatervet.
- Ne érjen a tesztcsíkokhoz az ujjával, 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 ELOKESZITESE

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+) tesztcsíki nem használható arra, hogy egy másik sorozatszámú blotból származó tesztcsíki eredményeit kiértékelje.

2. Vágja le a szükséges számú tesztcsíki (R1) szike és tiszta és száraz, lapos átlátszó vonalzó segítségével, a kék pozicionáló vonalakat hagyja meg a tesztcsíkiokon. A tesztcsíkiokra nyomja rá szorosan a vonalzót és vágja le a tesztcsíki oldala mentét a csíkiokat (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 tesztcsíkiokat a mintatartó tálca csatornáiba úgy, hogy a tesztcsíkiok tetején látható számok felfelé álljanak: Hagyja, hogy a tesztcsíkiok 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 bemérést követően a tesztcsíki tároló tálcat helyezze egy keverő/rázató berendezésre. Majd rázatva **inkubálja 90±5 percig**, 20-26 °C közötti hőmérsékleten.
6. Mosási lépés: Ürítse 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 tesztcsíkiokat 3 percig. Ismétlje meg az előző folyamatot kétszer, majd ürítse ki a csatornák tartalmait. Bizonyosodjon meg affelől, hogy a tesztcsíkiok 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 tesztcsíkiokat a közvetlen napfénytől. Majd így **inkubálja 60±5 percig**, 20-26 °C közötti hőmérsékleten a csíkiokat.

Az inkubációs paramétertől függetlenül folyamatosan figyelje a szín fejlődését. A színfejlődés leállítható, ha a tesztcsíki háttérszíne sötétebbé válik, ami megnehezíti a leolvasást (a mosási lépések minősége alapvetően befolyásolja a háttérszínt). Ne feledje, hogy a tesztcsíkiok 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. Tesztcsíkiok megszáritása: A még vízzel telített csatornákból vegye ki csipesz segítségével a tesztcsíkiokat, majd jól látható módon, a számozott végükkel helyezze el Whatman abszorbens szűrőpapírra. Hagyja megszáradni a tesztcsíkiokat a levegőn.
12. Tárolás: Tegye át a megszáradt tesztcsíkiokat egy papírlapra, amit az archiváláshoz fog használni. Igazítsa a tesztcsíkiokat a pozicionáló vonalak egymáshoz illesztésével. Tartsa tesztcsíkiokat 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. tesztcsíkhhoz képest). **Nagyon kerülendő** (fals eredményt eredményez) azon tesztcsíkok összehasonlítása, melyek különböző kitekből (tesztcsíkok eltérő gyártási számúak) származnak.

Minőség-ellenőrzés és kiértékelés

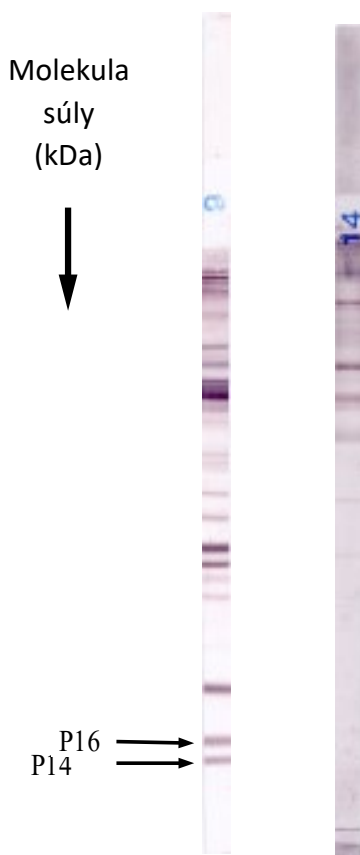
A kithoz biztosított szérum kontrollt (R10) szisztematikusan be kell állítani minden immunoblot vizsgálatkor. Megmutatja a tipikus profilt és lehetővé teszi a vizsgálat megfelelő lefolyásának technikai validálását (a tesztcsíkon a sávoknak nagyon tisztán olvashatónak kell lenniük), és bekalibrálja pontosan 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 weboldalon található példaként.

A sávok jellemzői

A pozitív minta esetén számos sáv jelenhet meg, melyek a 8 és 200 kilodalton (kDa) között találhatóak. Némelyek a leishmaniasisra specifikusak. De a nehézség, ezek megtalálása a meghatározott specificitás nélkül a többi sávok közül, mely a felhasználásuk hátránya.

Keresse meg a 14 és 16 kDa sávok jelenlétét minden vizsgált minta esetében a fent leírt kalibrációs eszközökkel (pozitív kontroll). Ezek a sávok a tesztcsík alján helyezkednek el, általában jól elkülönült módon, ezáltal nagyon könnyen értelmezhetőek.



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

A profilok példaként szerepelnek. A csíkokat az "02007" tételből származó paraméterre jellemző "C" betűvel jelöltük.

Kiértékelés

A 14 kDa és/vagy 16 kDa antigén sáv jelenléte a tesztcsíkon lehetővé teszi, a vizsgálatot pozitívnak lehessen értelmezni, és hogy arra a következtetésre juthassunk, hogy a vizsgált mintában anti-Leishmania IgG ellenanyagok jelen vannak.

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

A kit korlátjai

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

A negatív szerológiai eredményt nem zárja ki a visceralis leishmaniasis diagnózisát, különösen immunszuppresszált betegeknél. A leishmaniasis gyanújának felmerülésekor automatikusan a protozoonok parazitológiai vizsgálatát el kell végezni.

Teljesítményjellemzők (lásd az irodalmi hivatkozásokat)

A LEISHMANIA WB IgG vizsgálat volt a tárgya annak az összehasonlító tanulmánynak, amely IFA és ELISA technikákkal történt egy független laboratóriumban.

Érzékenység – Szenszitivitás

	IFA	ELISA	WB
POZITÍV	41	40	51
NEGATÍV	10	11	0

1. **táblázat:** A progresszív viszkerális leishmaniasisban szenvedő alanyokból származó 51 savót 3 módszerrel vizsgálták. ELISA és IFA fals negatív eredményeket mutatott, különösen az immunkompromittált betegeknél (HIV).

	IFA	ELISA	WB
POZITÍV	0	0	15
NEGATÍV	20	20	5

2. **táblázat:** Az endemikus területről származó és pozitív bőrérzékenységi reakciót mutatott egészséges élő emberek 20 savóját párhuzamosan vizsgálták három technikával: az IFA és az ELISA érzékenysége nem elegendő az antitestek alacsony szintjének kimutatására.

Specifitás

	IFA	ELISA	WB
POZITÍV	0	0	0
NEGATÍV	30	30	30

3. **táblázat:** Nem-endemikus területről származó egészséges élő emberek 30 savóját vizsgálták párhuzamosan immunoblottal, ELISA és IFA technikákkal egy független laboratóriumban: a három technika specifikussága 100%-nak adódott.

Megjegyzés: A tripanosomiasisban (*T. cruzi*) szenvedő betegeknél gyakran találhatók fals pozitív reakciók a technikától függetlenül.

Következtetés

A WB kiváló érzékenységgel rendelkezik, amely lehetővé teszi a zsigeri leishmaniasisban szenvedő betegek hatékony detektálását még immunodepressziós körülmények között is.

Ez lehetővé teszi a tünetmentes hordozók kimutatását, ugyanakkor kiváló specificitással rendelkezik, amint azt a pozitív szérumban hiánya mutatja nem endémiás betegekben.

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

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

A konfidencia intervallumokat Wilson módszere szerint számolják, folytonossági korrekcióval.

Reprodukálhatóság

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

Interferencia

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

Hibaelhárítás

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

"Árnyékolt területek láthatók, többé-kevésbé színesek, egyhán 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 szérumban 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 értelmezhetetlenek.

"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

- Aoun, Olivier, Charles Mary, Cédric Roqueplo, Jean-Lou Marié, Olivier Terrier, Aurélie Leveuge, 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.

ÉRTESÍTÉS A FRISSÍTÉSE - Olvassa el figyelmesen

KIADÁSI DÁTUM	VÁLTOZAT	MODIFIKÁCIÓS ÖSSZEFOGLALÓ
02/08/2021	Vs 15	A biztonsági figyelmeztetés eltávolítása R5 - Kapcsolattartó e-mail címe – NaN3 EUH 032.
24/10/2022	Vs16	R6 NaN3 nélkül. C betűvel jelölt szalag. Különböző tételekből származó reagensek lehetséges használata.
30/11/2022	Vs17	Új cím



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 – info@ldbiodiag.com