

ECHINOCOCCUS CE



Western Blot IgG

In vitro diagnostikas imunoblota tests
Daļēji automatizēta / manuāla tehnika

#ECH-WB24G: 24 tests

#ECH-WB12G: 12 tests

#ECH-WB96G: 96 tests

LIETOŠANAS INSTRUKCIJA

Plašāku informāciju un lietošanas instrukcijas savā valodā atrodiet mūsu vietnē

www.ldbiodiagnostics.com

PAREDZĒTĀ IZMANTOŠANA

ECHINOCOCCUS Western Blot (WB) IgG ir vienreizējas lietošanas kvalitatīvais tests seroloģiskai IgG diagnostikai, izmantojot imunoblota testu, kas paredzēts, lai apstiprinātu alveolārās ehinokokozes un hidatidozes, pozitīvu vai nepārprotamu rezultātu, kas iegūts, izmantojot klasiskos skrīninga testus.

TESTA PRINCIPI

Western Blot tehnika

Antigēni *Echinococcus multilocularis* larvae (kūniņas) kas atdalīti ar elektroforēzi, tiek saistīti ar elektroblotēšanu uz nitrocelulozes membrānas virsmas (ko sauc par pārnesi), tad sagriezti 24 sloksnēs, kas numurētas no 1 līdz 24.

Testa veikšana

Katrs testēšanas paraugs tiek inkubēts atsevišķi ar membrānas strēmeli. Specifiskās antivielas, kas potenciāli ir klāt paraugā, selektīvi saistās ar antigēniem. Pēc tam sārmainās fosfatāzes pret cilvēka IgG konjugāts saistās ar saistītajām antivielām. Visbeidzot, imūnkompleksi reaģē ar substrātu. Antigēni, ko atpazīst specifiskās IgG tipa antivielas, kas ir paraugos, tiek atklāti kā violetas krāsas horizontālas joslas.

KOMPLEKTA SASTĀVDAĻAS

Noklusējums: vērtības un daudzumi attiecībā pret 24 testu paku #ECH-WB24G

Slīpsvītrā rakstītie skaitļi ir vērtības un daudzumi attiecībā pret 12 testu paku #ECH-WB12G.

Izceltie skaitļi ir vērtības un daudzumi attiecībā pret 96 testu paku #ECH-WB96G.

ID	Daudz.	Apraksts	Sastāvs
R1	1	R1 Viena (1) mape satur 24 (12 vai 4x24) numurētas TESTA STRĒMELES + krāsains standarts. (Katra mape un katrs pārnesums tiek identificēts ar unikālu sērijas numuru)	Sensibilizēta nitroceluloze. Molekulmasa krāsa (kDa): Zils: 250, zils: 150, zils: 100, rozā: 75, zils: 50, zaļš: 37, rozā: 25, zils: 20, zils: 15, dzeltens: 10
R2	1	Viena (1) pudelīte satur 30 (30 vai 125) mL PARAUGA BUFERŠĶĪDUMA. Rozā šķīdums – gatavs lietošanai.	Buferšķīdums + surfaktants.
R3	1	Viena (1) pudelīte satur 30 (30 vai 2x60) mL ANTI IgG KONJUGĀTU Zils šķīdums – gatavs lietošanai	Buferšķīdums + poliklonāls kazas anti-cilvēka IgG konjugētas ar sārmaino fosfatāzi + stabilizatori + NaN ₃ (<0,1%).
R5	1	Viena (1) pudelīte 30 (30 vai 125) mL SUBSTRĀTA Brūna pudelīte – gatava lietošanai.	Buferšķīdums + NBT + BCIP + stabilizatori
R6	1	Viena (1) pudelīte satur 60 (60 vai 250) mL MAZGĀJAMĀ KONCENTRĀTA 10X bezkrāsas šķīdums – atšķaidīts 1/10 ar destilētu ūdeni.	koncentrēts buferšķīdums + surfaktants.
R10	1	Viena (1) pudelīte satur 200 (200 vai 2x200) µL POZITĪVĀS KONTROLES Pudelīte ar sarkanu vāku – gatava lietošanai.	Buferšķīdums + pozitīvs cilvēka serums <i>E. multilocularis</i> seroloģijā + stabilizatori + NaN ₃ (<0,1%).

R1: Burts pirms katra sloksnes numura ir īpašs parametram.

R2, R3, R5 un R6 ir kopīgi visiem komplektiem un tiem ir unikāls partijas numurs, kas atkarīgs tikai no to izgatavošanas datuma. **Ieteicams veikt daudzparametru testēšanu (skatīt LDBIO imunoblota diapazonu), lai ierobežotu atvērto flakonu skaitu un nodrošinātu labāku kvalitātes kontroli.**

R10 tiek kalibrēts imunoblota saskaņā ar atsauces partiju un ir paredzēts tikai šai metodei.

R3, R10 (NaN3): EUH 032 - Saskaroties ar skābēm, izdala ļoti toksiskas gāzes.

EUH210 Drošības datu lapa ir pieejama pēc pieprasījuma, kā arī mūsu vietnē www.ldbiodiagnostics.com.

PAPILDUS NEPIECIESAMIE MATERIĀLI

- Multi-kanālu polipropilēna inkubācijas paplāte priekš mini-blotiem (LDBIO # WBPP-08 vai tamlīdzīgi);
- Svārstīga platforma priekš imunoblotiem, vakuma sistēma šķidrums (LDBIO # WBPP-08 tvertnes, kuras mēs piegādājam, var iztukšot, vienkārši apgriežot tās apkārt).
- Mēģenes un materiāli paraugu pagatavošanai mērcilindri un piemēroti konteineri. Automātiskās pipetes, mikropipetes un vienreizlietojamie uzgaļi (tilpums 25 µL, 1,2 mL un 2mL)
- Destilēts vai dejonizēts ūdens. Absorbējošs papīrs (piem. Whatman filtrpapīrs), labas kvalitātes caurspīdīga līmlente;
- Cimdi un pincete strēmeļu turēšanai; šķēres vai skalpelis; plats, caurspīdīgs lineāls;

Piezīme: Mūsu reaģentus var izmantot automatizētā imunoblota procesorā. **Jāpievērš uzmanība mūsu reaģentu iespējamam ķīmiskiem piesārņojumiem, ja procesors tiek koplietots ar citu ražotāju reaģentiem** (zināms piemērs: TWEEN 20 piesārņojums) un baktēriju piesārņojums. Rezerves flakoni ir paredzēti procesoram. Pēc pārstrādes atlikušos izmantotos reaģentus nenovietojiet atpakaļ oriģinālajos flakonos.

UZGLABASANA UN STABILITĀTE

Visi reaģenti ir stabili līdz derīguma termiņa beigām (uzrakstīti uz iepakojuma kastēm un pudeļu etiķetēm), ja tiek uzglabāti 2-8 °C. Nelietojiet piesārņotu vai duļķainu reaģentu. Mazgāšanas buferšķidrums ir stabils 2 mēnešu garumā pēc atšķaidīšanas 1/10, ja tiek uzglabāts 2-8 °C un vienu nedēļu istabas temperatūrā.

PIESARDZIBAS PASAKUMI

Drošība

- Tikai *in vitro* lietošanai. Tikai profesionālai lietošanai. Tikai tehniski apmācītam personālam. Rīkojieties atbilstoši Labas laboratorijas praksei (GLP) un uzskatiet jebkuru reaģentu un jebkuru paraugu par potenciāli toksisku un / vai infekciozu.
- Valkājiet laboratorijas apģērbu, cimodus un brilles; nedzeriet, neēdiet un nesmēķējiet laboratorijā. Neaiztieciet pipetes ar muti.
- Pozitīvā kontrole ir cilvēka izcelsmes serums, kas ir inaktivēts attiecībā uz HIV 1 un 2, B hepatīta un C hepatīta vīrusiem. Un tomēr, kā zināms, ka neviens tests pilnībā nevar nodrošināt pilnīgu vīrusu neesamību, tāpēc izturieties pret visu ar attiecīgo uzmanību;
- Substrāts satur NBT un BCIP, kas var būt toksisks ieelpošanas gadījumā vai pēc saskares ar ādu. Ja substrāts nokļūst saskarē ar ādu, tas nekavējoties jānoskalo ar ūdeni;
- Lielākā daļa reaģentu satur nātrija azīdu kā konservantu. NaN3 var veidot iespējami eksplozīvus metālu azīdus ar svina un vara cauruļvadu sistēmu. Kad atbrīvojieties no atkritumiem, reaģenti ir jāaizskalo prom ar lielu ūdens daudzumu, lai novērstu azīdu attīstību;
- Sazinieties ar profesionālu atkritumu izvešanas servisu, lai atbrīvotos no visiem bioloģiskajiem materiāliem (serumiem, mazgāšanas buferšķīdumiem, uzgaļiem, pudelītēm, lietotiem reaģentiem...), ievērojiet visus valsts un reģiona noteiktos vides aizsardzības pasākumus.
- Par visiem nopietniem incidentiem ir jāpiesakās ražotāja un kompetentās iestādes deklarācijā.

Procedūra

- Izlasiet un interpretējiet rezultātus tiešā baltā gaismā.
- Visus reaģentus vēlams izmantot no vienas partijas. Ja tiek izmantotas dažādas partijas, jānodrošina izsekojamība.
- Nejauciet reaģentus ar dažādiem sērijas numuriem; izmantojiet strēmeles skaitliskā secībā. Nejauciet strēmeles no dažādiem sērijas numuriem; izmantojiet secībā pēc kārtas. Pirms testa sākšanas izveidojiet īpašu darba plānu- protokolu.
- Nepieskarieties strēmelēm ar pirkstiem; izmantojiet pincetes.
- Pirms lietošanas reaģenti labi jāsamaisa, īpaši koncentrētais mazgāšanas buferis.
- Pēc lietošanas aizveriet flakonus; nelietojiet, ja reaģentos nejauši ievadīta cita viela. Nelietojiet reaģentu no flakona, kas norāda uz noplūdes pazīmēm. Nelietot duļķainu vai nogulsnētu šķīdumu.
- Izmantojiet tikai vienreiz lietojamus pipetes uzgaļus. Izvairieties no jebkāda kanālu piesārņojuma. Skatieties, vai pipetes uzgaļos nav putu vai burbulu (reaģentu flakonu baktēriju piesārņojums).
- Notīriet inkubācijas paplātes tikai ar destilētu ūdeni (nekad neizmantojiet mazgāšanas līdzekli vai balinātāju).
- Parauga izlaistīšanas vai pietiekama apjoma sadalījums var padarīt testa rezultātu negatīvu vai pozitīvu neatkarīgi no tā faktiskā statusa.

PARAUGU VĀKŠANA

Aseptiski paraugus savāc sausās mēģenēs. Nepieciešams vismaz 25 µL seruma.

Paraugus glabā 2–8 ° C temperatūrā, līdz tie tiek apstrādāti. Ja tie jāuzglabā ilgāk par nedēļu, paraugus sasaldē -20 ± 5 ° C temperatūrā. Nelietojiet piesārņotu paraugu. Izvairieties no atkārtotas paraugu sasaldēšanas un atkausēšanas.

Lai gan nav novērota īpaša krusteniska reakcija ar hemolizētiem, icteriskiem vai lipīdu serumiem, ir ieteicams rūpīgi interpretēt šādu paraugu lietošanas rezultātus.

REAĢENTU SAGATAVOŠANA

Mazgāšanas buferšķīdums (R6) – priekš 4 testiem, tīrā pudelē tiek atšķaidīti 10 mL mazgāšanas koncentrāta 10X (**R6**) 90 mL destilēta vai dejonizēta ūdens.

TESTA PROCEDŪRA

Piezīme: ieteicams veikt daudzparametru testēšanu (skatīt LDBIO immunoblota diapazonu), lai ierobežotu atvērto flakonu skaitu un nodrošinātu labāku kvalitātes kontroli.

1. Sagatavot paraugu darba plānu un C + pozitīvo kontroli (**R10**).

Vienīgi, izmantojot šo kontroli var testu tehniski validēt un identificēt, attiecībā uz konkrēto sērijas numuru, izstrādātās konkrētās joslas. A C + strēmeles nevar izmantot, lai interpretētu strēmeles rezultātus no citu sēriju numuriem.

2. Lietojiet caurspīdīgu lineālu (labi notīrītu un sausu) un šķēres (vai skalpeli), lai sagrieztu tik daudz strēmeles R1, cik nepieciešams: turiet strēmeles vietā, piespiežot lineālu stingri uz strēmeles (numuri būs redzami caur lineālu), un sagrieziet strēmeles. Nodrošini, ka saglabājas numuri uz strēmēlēm.
3. Izgatavojiet un novirziet 1,2 mL paraugbuferšķīdumu (R2) norādītajos kanālos.pēc darba plāna.
4. Skaitliskā secībā ielieciet numurētās strēmeles kanālos: ļaujiet strēmeļu virsmām rehidratēties buferī apmēram 2 minūtes, ar skaitli, kas redzams augšpusē, tad uzmanīgi sakratiet paplāti, lai pilnībā iegremdētu tos buferī.
5. Dozējiet paraugus un pozitīvo (-ās) kontroli (-as): saskaņā ar darba plānu, ar daudzumu 25 µl vienā kanālā. Pēc katras dozēšanas uzmanīgi sakratiet paplāti. Novietojiet paplāti uz šūpošanas platformas.
Inkubējiet 90 minūtes ± 5 minūtes 20-26 ° C temperatūrā.
6. Mazgāšanas solis: iztukšojiet kanālu saturu ar Pastēra (Pasteur) pipeti vai apgriežot inkubācijas paplāti. Ievada 2 līdz 3 mL atšķaidīta mazgāšanas bufera katrā kanālā. Inkubējiet uz šūpošanas platformas 3 minūtes. Atkārtojiet 2 reizes, tad iztukšojiet kanālu saturu. Pārlicinieties, ka strēmeles nesagriežas šo darbību laikā.
7. Ievada 1,2 mL anti-IgG konjugāta (R3) katrā kanālā. Novietojiet paplāti uz šūpošanas platformas.
Inkubēt 60 minūtes ± 5 minūtes 20-26 ° C temperatūrā
8. Mazgāšanas solis: atkārtojiet 6. soli.
9. Katrā kanālā sadaliet 1,2 mL NBT / BCIP substrāta (R5). Novietojiet uz šūpošanas platformas un pasargājiet no tiešas gaismas. **Inkubēt 60 minūtes ± 5 minūtes 20-26 ° C temperatūrā.**

Neatkarīgi no parametra uzraugiet krāsas attīstību. Attīstību var apturēt, ja strēmeles fona krāsa kļūst tumšāka par vietu, kur nolasīšana ir sarežģīta (mazgāšanas posmu kvalitātei ir būtiska ietekme uz fona krāsu). Nemiet vērā, ka strēmeles kļūs vieglākas, kad tās nožūst.

10. Apturiet reakciju, izsūcot substrātu ar Pastēra pipeti vai pagriežot inkubācijas vannu un pievienojiet 2 mL destilēta ūdens kanālos. Atkārtojiet šo pēdējo mazgāšanas soli vēlreiz.
11. Strēmeļu žāvēšana: Ar kanāliem, kas vēl aizpildīti ar ūdeni, izņemiet strēmeles ar numurēto galu, izmantojot pinceti un novietojiet tos ar redzamo skaitli uz Whatman absorbējoša papīra. Ļaujiet nožūt. Žāvēšanas laikā sloksnes krāsa dabiski kļūst gaišāka. Interpretāciju drīkst veikt tikai pēc pilnīgas izžūšanas.
12. Uzglabāšana: Pārnesiet sloksnes uz papīra lapas, ko izmantos to arhivēšanai. Izlīdziniet pozicionēšanas līnijas. Turot tos vietā ar plakānu lineālu, sloksnes augšdaļu piestipriniet ar caurspīdīgu līmlenti

Lai nodrošinātu labu interpretāciju, strēmeles pārnes pēc pasūtījuma skaitliskā secībā, novietojot atstatumā ne vairāk kā par dažiem milimetriem. Nav ticami, lai salīdzinātu strēmeles, kas ir izvietotas tālu viena no otras

(piemēram, No.2 ar Nr.15). Ir **bīstami** (kļūdaini rezultāti) salīdzināt dažādu komplektu strēmeles (strēmeles ar dažādiem sērijas numuriem).

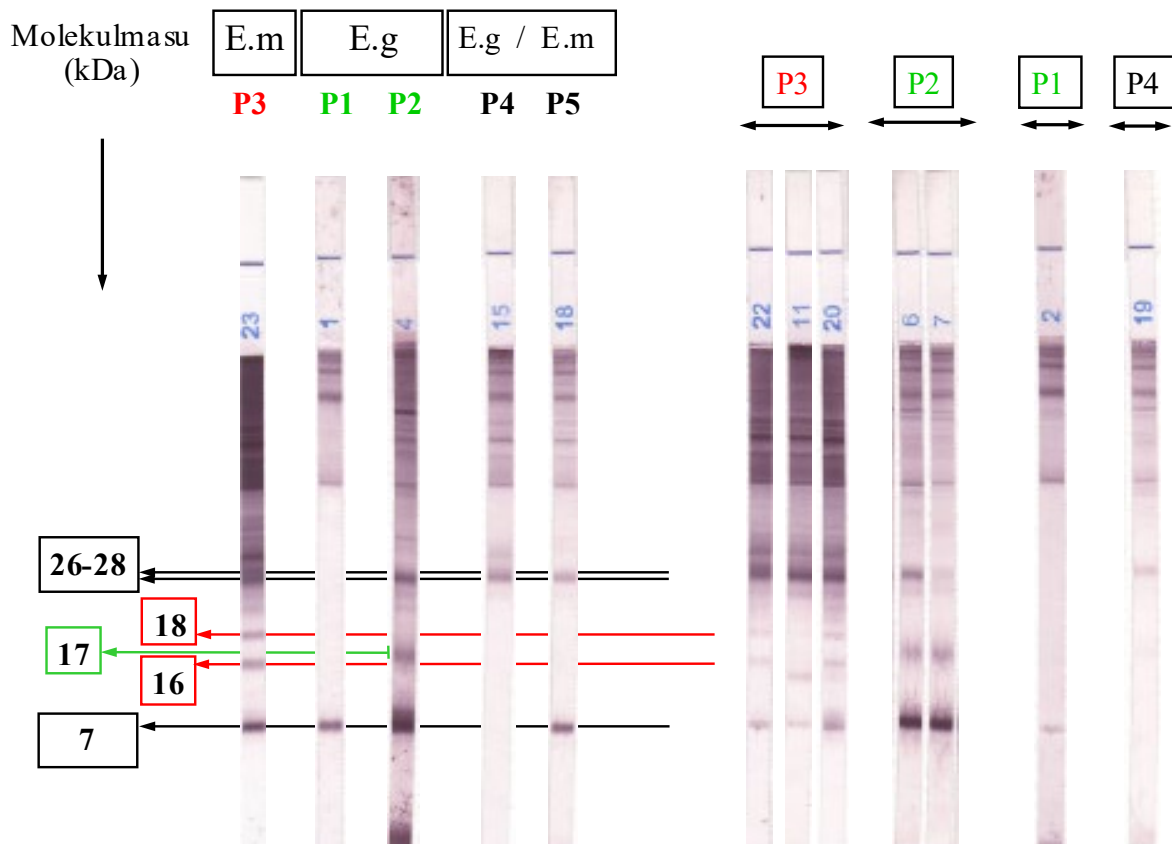
KVALITATES KONTROLE UN INTERPRETĀCIJA

Seruma kontrole (R10), kas komplektā iekļauta, ir sistemātiski jāiekļauj jebkurā imunoblota testēšanas sērijā. Tā parāda tipisko profilu un ļauj tehniski pārbaudīt labas pārbaudes veikšanu (joslām jābūt ļoti skaidri redzamām uz strēmeles) un precīzi kalibrēt konkrēto joslu atrašanās vietu un aspektu, lai varētu interpretēt strēmeļu rezultātus no tās pašas testēšanas sērijas (tas pats sērijas numurs).

Piezīme: Pozitīvās kontroles (R10) profils var atšķirties atkarībā no izmantoto reaģentu partijas skaita. Atbilstošie attēli ir pieejami mūsu vietnē www.ldbiodiagnostics.com kā piemērs.

Joslu apraksts

- Lasīšanas zona atrodas sloksnes apakšējā daļā, starp 7 un 26-28 kDa. 26-28 kDa frekvenču josla tiek nosaukta tāpēc, ka tā var būt dažādos aspektos: viena šaura josla (26 vai 28 kDa), dubultā josla (26 un 28 kDa) vai liela josla, kas aptver visu platību no 26 līdz 28 kDa.
- Extreme* (liela izmēra) 7 un 26-28 kDa joslas tiek izmantotas, lai diagnosticētu *Echinococcus* ģinti (skatīt zemāk: § I interpretācija).
- Starpsienu joslas, kas atrodas starp 7 un 26-28 kDa, tiek izmantotas, lai diagnosticētu *granulosus* vai *multilocularis* sugas (turpmāk skatīt: II interpretāciju)



1. att. Pozitīvu un negatīvu rezultātu piemēri

Profili ir doti kā piemēri. Sloksnes ir marķētas ar burtu "D", kas raksturīgs parametram no partijas "03023".

Interpretācija

- Ģints diagnostika:
 - 7 un / vai 26-28 kDa lielāko joslu klātbūtne
- Sugas diagnostika:
 - Profili **P1** vai **P2** : *Echinococcus granulosus* (E.g)
 - Profil **P3** : *Echinococcus multilocularis* (E.m)
 - Profili **P4** vai **P5** : *E. Multilocularis* vai *E. granulosus*

I interpretācija *Echinococcus* ģints diagnoze:

Meklējiet 7 un / vai 26-28 kDa joslu klātbūtni katram paraugam, kas testēts ar iepriekš aprakstītajiem kalibrēšanas instrumentiem (šīs joslas ir tipiskas un parasti ir ļoti viegli atrodamas).

7 un / vai 26-28 kDa lielo joslu klātbūtne ir nepieciešama, lai testu interpretētu kā pozitīvu, un lai secinātu, ka pārbaudītajā paraugā ir anti-*Echinococcus* IgG antivielas.

II interpretācija sugas diferenciāldiagnoze *E. granulosus* pret *E. multilocularis*:

- Tas tiek darīts, meklējot konkrētas vienas vai otras sugas joslas starpzonā starp 7 un 26 kDa.
- Abām sugām kopīgas joslas: 12, 15, 20, 24 kDa
 - Šauras joslas, kas atrodamas tikai ar *E. multilocularis*: 16, 17, 18 kDa
 - Josla atrodama tikai ar *E. granulosus*: liela difūzā josla 17 kDa.

Var atrast 5 dažādus profilus.

- Profili P1, P2 un P3 (atrodami 70% gadījumu) diagnosticē sugu:

PROFILS P1: Tikai 7 kDa josla.	<i>Echinococcus granulosus</i>
PROFILS P2: 7 kDa josla + liela difūzā 17 kDa josla. (NB: 26-28 kDa diapazons ir ļoti bieži sastopams.)	<i>Echinococcus granulosus</i>
PROFILS P3: 26-28 joslas + šaurās 16 un / vai 18 kDa joslas. (NB: lielākā daļa no pārējām 7, 12, 15, 17, 20 vai 24 kDa joslām arī ļoti bieži ir klāt.)	<i>Echinococcus multilocularis</i>

- 2 pēdējie profili, P4 un P5 (atrodami 30% gadījumu), nenoškir 2 sugas *E. granulosus* un *E. multilocularis*.

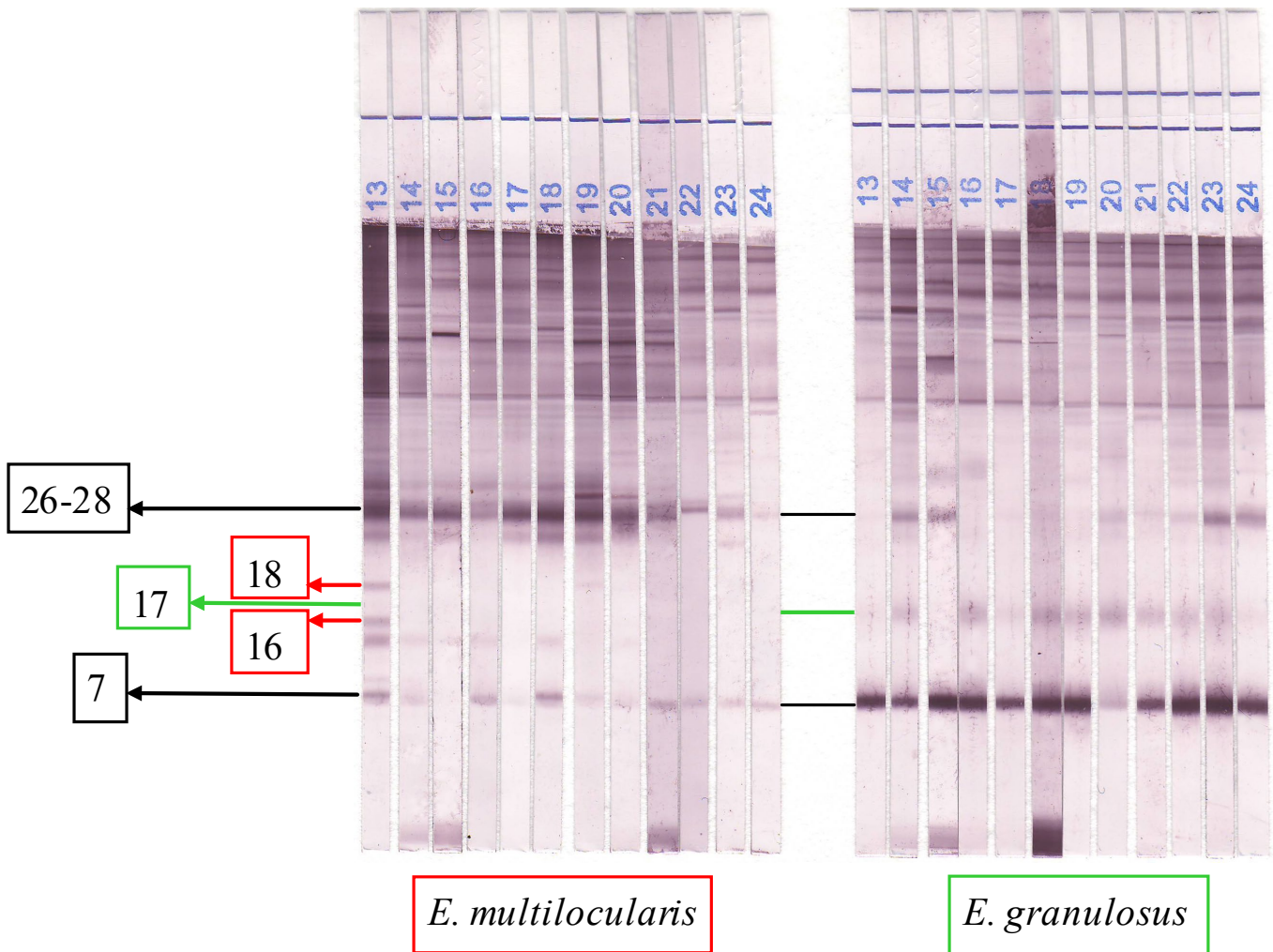
PROFILS P4: tikai 26-28 kDa josla	NAV starpjosla
PROFILS P5: 7 + 26-28 kDa joslu	NAV starpjosla

Piezīme 1: Nevar uzskatīt, ka viena vai vairāku (12, 15, 16, 17, 18, 20 vai 24 kDa) izolētu starpjoslų klātbūtne ir specifiska. Šādas joslas nekad nav izolētas *Echinococcus* gadījumā, bet tās vienmēr ir saistītas ar 7 kDa un / vai 26-28 kDa joslām.

piezīme 2: Augstāk redzamās joslas un retāk, zemāk redzamās, 7-28 kDa zonas ir sastopamas ļoti bieži. Tos nedrīkst izmantot, lai interpretētu testu.

piezīme 3: Izņēmuma kārtā 16 kDa diapazons parādījās lielāks nekā normāli pacientam, kas inficēts ar *E. multilocularis*. Esiet uzmanīgi, lai nesajauktu šo joslu ar lielo 17 kDa joslu, kas ir raksturīga *E. granulosus*.

Piezīme 4: Starpjoslų ir mazāk intensīvas nekā 7 un 26-28 kDa joslas. Lai tās pareizi attīstītu, bieži ir nepieciešams inkubēt substrātu 60 minūtes. Nepārtrauciet to pārāk ātri.



2. attēls. Papildu paraugi pozitīviem imunoblota paraugiem, kas nāk no *E. multilocularis* un *E. granulosus* inficētiem pacientiem.

Profili ir doti kā piemēri. Sloksnes ir marķētas ar burtu "D", kas raksturīgs parametram no partijas "03023". Šie paraugi tika īpaši izvēlēti kā pozitīvi vāji: visi *E.m* profili ir nepilnīgi (izņemot pirmo sloksni, Nr. 13).

Interesanti atzīmēt, ka profili, kas atraodami katrai sugai ir:

E. multilocularis: 26-28 kDa diapazons bieži parādās dubultās joslas formā, un tā ir visintensīvākā.

E. granulosus: otrādi, intensīvākā josla ir 7 kDa josla.

Taču šī noteikums nav absolūts (piem., *E. m* josla Nr. 24 - *E. g* josla Nr. 20)

Lai validētu rezultātus, vienmēr salīdziniet katra parauga imunoblota profilu ar pozitīvās R10 kontroles paraugu. Frekvenču joslu aspekts ir svarīgs, interpretējot testu.

LIETOŠANAS IEROBEZOJUMI

- Infekcijas slimības diagnozi nevar noteikt, pamatojoties uz vienu testa rezultātu.
- Lai noteiktu diagnozi, seroloģiskie rezultāti jāinterpretē saskaņā ar pieejamo informāciju (piemēram, epidemioloģiju, klīnisko, Rtg, bioloģija u.c.). Tos nevajadzētu izmantot diagnozei, pamatojoties tikai uz viņu pozitīvo stāvokli.

EFEKTIVITĀTES RĀDĪTĀJI (skatīt bibliogrāfija)

Jutīgums (Se)

Vairāku centru pētījumi, ko veica divās neatkarīgās specializētās laboratorijās un, kas aptvēra 111 pacientu serumus (50 hidatidozes gadījumi un 61 gadījumi, kad tika konstatēta alveolar echinococcosis), sniedza šādus rezultātus:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: iegūtie profili					
	Neg	P1	P2	P3	P4	P5
Hidatidoze (n=50)	1	12	22	0	1	14
Alveolārā ehinokokoze (n=61)	2	0	0	41	7	11
Kopā (n=111)	3	12	22	41	8	25

1. tabula. Iegūtā testa un iegūto profilu jutīgums

Testa jutīgums:

Se = 97,3% attiecībā pret *Echinococcus* ģinti

Se = 98% attiecībā uz *E. granulosus* sugu

Se = 96,7% attiecībā pret *E. multilocularis* sugu

Sugas diagnostika: *E. granulosus* pret *E. multilocularis*

1. tabulā var aprēķināt spēju diskriminēt divas sugas 67,6% (P1 + P2 + P3 profili).

Specifiskums - krusteniskās reakcijas:

Divas iepriekšējās laboratorijas testēja 147 seruma paraugus, kas atbilst 147 pacientiem, ar ECHINOCOCCUS WB IgG komplektu.

Tika iekļauti serumi no pacientiem, kas cieš no turpmāk minētā: *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) un šādas autoimūnās slimības: RF reimatoīdais faktors (8), ANA Anti-Nuclear antivielas (12).

139 serumi ir negatīvi, kas liecina par 94.6% specifiskumu šajā populācijā.

8 savstarpējās reakcijas tika novērotas tikai kā daļa no:

- Cysticercosis: izolēta 7 kDa diapazona klātbūtne 5/42 pacientiem.
- Autoimūnās slimības: izolētas šauras joslas klātbūtne 28 kDa apmērā 1/8 pacientiem (FR +) un 2/12 ANA + pacientiem.

NB: Fasciolosis: 4/10 pārbaudītiem pacientiem tika konstatēta izolēta ļoti liela josla (25-30 kDa), taču to nevar sajaukt ar konkrēto 26-28 joslu.

Secinājums

Korelācija starp WB ehinokoku un klīnisko stāvokli ir lieliska.

Jutība Se = 97,3% [CI95 91,7 - 99,3%]

Specifiskums Sp = 94,6% [CI95 89,2 - 97,4%]

Turklāt WB ļauj diferenciāli diagnosticēt pozitīvus paraugus ar ļoti specifisku *E. multilocularis* un *E. granulosus* profilu.

E. multilocularis profils (P3 profils)

Jutīgums = 67,2 % [CI95 53,9-78,4 %] Specifiskums attiecībā pret *E. granulosus* = 100 % [91,1-100 %].

E. granulosus profils (profili P1 un P2)

Jutīgums = 68% [CI95 53,2 - 80,1%] Specifiskums attiecībā pret *E. multilocularis* = 100% [92,6 - 100%]. Piezīme: P1 profils tomēr tika konstatēts 5 cisticerkozēs gadījumos (no 42).

Ticamības intervāli tiek aprēķināti pēc Vilsona metodes ar nepārtrauktības korekciju.

Atkārtotamība

Tika pārbaudīta sērijveida un starppartiju atkārtotamība. Abos gadījumos seruma korelācija ar serumu attiecībā pret konkrētām joslām ir lieliska.

Traucējumi

Lai gan nav novērota īpaša krusteniska reakcija ar hemolizētiem, icteriskiem vai lipīdu serumiem, ir ieteicams rūpīgi interpretēt šādu paraugu lietošanas rezultātus.

PROBLĒMU NOVĒRŠANA

"Joslas ir gaišas ar nelielu kontrastu." Daži serumi ar zemām antivielu koncentrācijām var dot šādus rezultātus.

"Gaišas zonas var redzēt, vairāk vai mazāk krāsainas, nedaudz difūzas": strēmeles netika pilnībā iegremdētas vienā no reaģentiem un nav pareizi inkubējusies. Krāsas var būt arī tajās vietās, kur paraugs tika nogulsnēts, ja aplāte pēc tam, kad tā tika pievienoti reaģenti, netika sakratīta.

"Fona troksnis ir ievērojams, padarot lasīšanu ļoti grūtu": mazgāšana bija nepietiekama vai pēdējā inkubācija bija pārāk gara. Nodrošiniet labas testēšanas veiktspējas metodes, ievērojiet mazgāšanas laiku un nodrošiniet ūdens kvalitāti. Samaziniet pēdējās inkubācijas laiku. Izņēmuma kārtā daži serumi var reaģēt nespecifiski. Šādā gadījumā imunoblotu rezultāti nevar tikt izmantoti. Šis nespecifiskais fona troksnis var ietvert tikai daļu no strēmeles, padarot rezultātus tikai daļēji interpretējamus.

"Pēdējā attīstības stadijā šķīdumā parādās nogulsnes": substrāts faktiski var būt daļēji nogulsnēts (melns pārslas) bufera derīguma beigās. Šī parādība nemaina reakcijas kvalitāti, tā jāturpina normāli. Pēdējā mazgāšana ar destilētu ūdeni novērš iespējamās cietās daļiņas.

BIBLIOGRĀFIJA

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.

PAZIŅOJUMS PAR ATJAUNINĀŠANU - lūdzu, uzmanīgi izlasiet

IZDOSANAS DATUMS	VERSIJA	MODIFIKACIJAS KOPSAVILKUMS
30/11/2022	Vs16	Jauna adrese
07/12/2022	Vs17	R6 bez NaN3. Lente apzīmēta ar burtu D. Iespējams, izmantoti reaģenti no dažādām partijām.



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