

ECHINOCOCCUS



Western Blot IgG

Diagnostyka *in vitro* Test immunoblotu
Technika półautomatyczna / ręczna

#ECH-WB24G: 24 tests

#ECH-WB12G: 12 tests

#ECH-WB96G: 96 tests

INSTRUKCJA UŻYCIA

Więcej informacji i instrukcje użytkowania w swoim języku można znaleźć na naszej stronie internetowej www.ldbiodiagnostics.com

PRZEZNACZENIE

ECHINOCOCCUS Western Blot (WB) IgG to test jednorazowego użytku jakościowy służący do diagnozowania serologicznego IgG za pomocą testu Immunoblot na bąblowicę pęcherzykową i hydatidozę przeznaczony do prowadzenia badań potwierdzających dla dodatnich lub niejednoznacznych wyników uzyskanych w klasycznych badaniach przesiewowych.

ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Technika Western Blot

Antygeny *Echinococcus multilocularis* larvae, po ich oddzieleniu za pomocą elektroforezy, zostają związane poprzez electroblotting z powierzchnią membrany nitrocelulozowej (jest to tzw. transfer) podzielonej na 24 paski ponumerowane od 1 do 24.

Wykonanie testu

Każdą próbkę przeznaczoną do testu inkubuje się osobno za pomocą paska. Swoiste przeciwciała potencjalnie obecne w próbce wiążą się selektywnie z antygenami. Następnie koniugat fosfatazy alkalicznej i przeciwciała przeciwludzkiego IgG wiąże się ze związanymi przeciwciałami. Na koniec, immunokompleksy reagują z substratem. Antygeny rozpoznane przez swoiste przeciwciała typu IgG obecne w próbkach są widoczne jako fioletowe, poprzeczne pasma.

ZAWARTE ODCZYNNIKI

Domyślnie: pakiet 24 testów (#ECH-WB24G)

kursywa: pakiet 12 testów (#ECH-WB12G) – **tlusty druk**: Pakiet 96 testów (#ECH-WB96G).

ID	Ilość	Opis	Skład
R1	1	Pakiet(y) 24 (12, 4x24) PASKÓW: wstępnie przycięte + kolorowe wzorce. (Każdy pakiet i każdy transfer jest oznaczony niepowtarzalnym numerem seryjnym)	Uwrażliwiona nitroceluloza Oznaczona kolorami masa cząsteczkowa (kDa): Niebieski: 250, Niebieski: 150, Niebieski: 100, Różowy: 75, Niebieski: 50, Zielony: 37, Różowy: 25, Niebieski: 20, Niebieski: 15, Żółty: 10.
R2	1	Fiolka 30 (30, 125) ml ROZTWORU BUFOROWEGO (Gotowy do użycia - różowy roztwór).	Roztwór buforowy + środek powierzchniowo czynny.
R3	1	Fiolka zawierająca 30 (30, 2x60) mL KONIUGATU ANTY IgG (Gotowy do użycia - niebieski roztwór).	Roztwór buforowy + poliklonalna surowica z kozim przeciwludzkim IgG skoniugowana z fosfatazą alkaliczną + Na ₃ N (<0,1%) + stabilizatory.
R5	1	Fiolka 30 (30, 125) mL SUBSTRATU (Gotowy do użycia - nieprzeźroczysta brązowa fiolka).	Roztwór buforowy + NBT + BCIP + stabilizatory.
R6	1	Fiolka 60 (60, 250) mL KONCENTRATU DO PRZEMYWANIA 10X ROZTWÓR BUFOROWY (Do 10-krotnego rozcieńczenia w wodzie destylowanej - bezbarwny roztwór).	Roztwór buforowy + środek powierzchniowo czynny.
R10	1	Probówka 200 (200, 2x200) µL DODATNIEJ SUROWICY KONTROLNEJ (Gotowa do użycia - czerwony korek).	Roztwór buforowy + pula próbek ludzkiej surowicy z dodatnią serologią <i>E. multilocularis</i> + Na ₃ N (<0,1%) + stabilizatory.

R1: Litera przed każdym numerem paska jest specyficzna dla parametru.

R2, R3, R5 i R6 są wspólne dla wszystkich zestawów i mają niepowtarzalny numer partii uzależniony wyłącznie od daty produkcji. **Zaleca się przeprowadzenie testów wieloparametrowych (patrz przedział Immunoblot LDBIO) w celu ograniczenia liczby otwartych fiolek i zapewnienia lepszej kontroli jakości.**

R10 jest kalibrowany w immunoblot zgodnie z serią referencyjną i jest przeznaczony tylko do tej techniki.

R3, R10 (NaN₃): EUH 032 - W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.

EUH 210 Karta charakterystyki dostępna na żądanie i na naszej stronie internetowej www.ldbiodiagnostics.com.

DODATKOWE WYMAGANE MATERIAŁY NIE ZOSTANĄ ZAPEWNIONE

- Wielokanałowe, polipropylenowe kuwety inkubacyjne do prowadzenia testów typu mini-blot (nr WBPP- 08 lub równoważny).
- Platforma kotuszka do testów Immunoblot, system próżniowy do płynów (wanienki WBPP- 08, które dostarczamy mogą zostać opróżnione poprzez obrócenie).
- Probówki i materiały do pobierania próbek, kolby z podziałką, specjalne pojemniki. Automatyczne pipety, mikropipety i końcówki jednorazowego użytku (o objętości 25 µL, 1,2 mL i 2 mL).
- Woda destylowana lub dejonizowana. Papier absorpcyjny (np. bibuła Whatman), przezroczysta taśma klejąca.
- Rękawiczki , pinceta do przenoszenia pasków, obcinak lub skalpel, płaska przezroczysta linijka.

Uwaga: Nasze odczynniki mogą być wykorzystywane w automatycznym analizatorze Immunoblot. **Należy zachować ostrożność w celu uniknięcia możliwego skażenia chemicznego naszych odczynników, jeśli w analizatorze stosowane są również odczynniki innego producenta** (znany przykład: skażenie TWEEN 20), i skażenie bakteryjne. Zachować fiołki do analizatora. Po przetworzeniu nie wlewać pozostałości użytych odczynników z powrotem do oryginalnych fiolek.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać w temperaturze od 2 do 8 °C. Odczynniki z zestawu zachowują stabilność do daty ważności wskazanej na opakowaniu zewnętrznym i etykietach fiolek. Nie używać zanieczyszczonego lub mętnego odczynnika. Roztwór buforowy rozcieńczony do 1/10 zachowuje stabilność przez 2 miesiące w temp. +2 to +8 C oraz przez jeden tydzień w temperaturze pokojowej.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI DOTYCZĄCE STOSOWANIA

Bezpieczeństwo stosowania

- Wyłącznie do zastosowań *in vitro*. Tylko do użytku profesjonalnego. Tylko dla przeszkolonego technicznie personelu. Przestrzegać zasad Dobrej praktyki laboratoryjnej i traktować każdy odczynnik i każdą próbkę jako potencjalnie toksyczne i/lub zakaźne.
- Nosić kitel laboratoryjny, rękawice i okulary; nie pić, nie jeść i nie palić w laboratorium. Nie wkładać pipet do ust.
- Kontrolą pozytywną jest surowica pochodzenia ludzkiego inaktywowana pod kątem wirusów HIV 1 i 2, zapalenia wątroby typu B i zapalenia wątroby typu C. Należy ją jednak traktować jako produkt potencjalnie zakaźny.
- Substrat zawiera mieszaninę NBT i BCIP, toksyczny w kontakcie (ze skórą i błoną śluzową) oraz przy wdychaniu.
- Odczynniki zawierają azyd sodu, który może tworzyć wybuchowe sole metaliczne z ołowiem i miedzią. Wszelkie rozlane odczynniki sflukać wodą.
- Utylizacja odpadów (próbki, końcówki, płyn do przemywania, zużyty odczynnik...) zgodnie z dobrą praktyką stosowaną w branży i przepisami obowiązującymi w danym kraju.
- Każdy poważny incydent musi być przedmiotem deklaracji skierowanej do producenta i właściwego organu.

Środki ostrożności

- Przeczytaj i zinterpretuj wyniki w bezpośrednim świetle białym.
- Zaleca się stosowanie wszystkich odczynników z tej samej partii. Jeśli używane są różne partie, należy zapewnić możliwość śledzenia ich losów.
- Paski wykorzystywać w porządku numerycznym. Nie łączyć pasków o różnych numerach seryjnych, transfery należy stosować kolejno. Przed rozpoczęciem testu należy ustalić specjalny plan dystrybucji.
- Nie dotykać pasków placami, korzystać z pincety.
- Odczynniki należy dobrze wymieszać przed użyciem, w szczególności skoncentrowany roztwór buforowy do przemywania.
- Zamknąć fiołki po użyciu, nie używać, jeśli do odczynników wprowadzono przypadkiem inną substancję. Nie używać odczynnika z fiołki noszącej oznaki wycieku. Nie używać roztworu mętnego lub ze strątem.
- Stosować wyłącznie końcówki pipety przeznaczone do jednorazowego użytku. Unikać skażenia pomiędzy poszczególnymi kanałami. Obserwować końcówki pod kątem tworzenia się piany i pęcherzyków powietrza w ich wnętrzu (skażenie bakteryjne fiołek z odczynnikiem).
- Kuwety inkubacyjne czyścić wodą destylowaną (w żadnym przypadku nie stosować detergentów ani wybielacza).
- Pominięcie próbki lub dystrybucja nieprawidłowej objętości może spowodować uzyskanie negatywnym lub pozytywnym wynikiem testu, niezależnie od rzeczywistego stanu.

POBIERANIE PRÓBEK

Aseptycznie pobrać próbki do suchych probówek. Wymagane jest co najmniej 25 µL surowicy.

Próbki należy utrzymywać w temperaturze 2-8 °C do czasu ich przetwarzania. Jeżeli próbki mają być przechowywane dłużej niż tydzień, należy je zamrozić w temperaturze -20 ± 5 C. Nie używać skażonych próbek. Unikać kilkukrotnego zamrażania i rozmrażania próbek.

Nawet jeśli nie zaobserwuje się szczególnych reakcji krzyżowych w zhemolizowanych, ikteryicznych lub lipemicznych próbkach surowicy, zaleca się ostrożną interpretację wyników uzyskanych z takich próbek.

PRZYGOTOWANIE ODCZYNNIKÓW

Roztwór buforowy do przemywania: Do 4 testów, w czystej butelce, rozcieńczyć 10 mL koncentratu do przemywania 10X (R6) w 90 mL wody destylowanej lub dejonizowanej. Uważaj, aby dobrze wymieszać rozcieńczony bufor.

PROCEDURA PROWADZENIA TESTU

Proszę zauważyć: Zaleca się przeprowadzenie testów wieloparametrowych (patrz przedział Immunoblot LDBIO) w celu ograniczenia liczby otwartych fiolek i zapewnienia lepszej kontroli jakości.

1. Przygotować plan dystrybucji dla próbek i kontroli dodatniej C+ (**R10**).

Tylko zastosowanie tej kontroli umożliwia przeprowadzenie technicznej walidacji i identyfikacji testu, dla danego numeru seryjnego, widocznych swoistych pasm. Paska C+ nie można użyć do interpretacji wyników pasków z testu typu blot o innym numerze seryjnym.

2. Pociąć odpowiednią ilość pasków (R1) za pomocą skalpela i czystej, płaskiej, przezroczystej linijki, utrzymując niebieską linię pozycjonującą na paskach; mocno przytrzymać paski w miejscu za pomocą linijki i ciąć je obok szczepu (numery są widoczne przez linijkę).
3. Wprowadzić 1,2 mL roztworu buforowego (R2) do każdego kanału zgodnie z ustalonym planem.
4. Umieścić ponumerowane paski w kanałach w porządku numerycznym. Należy odczekać, aby paski się ponownie nawodniły na powierzchni przez ok. 2 minuty, tak aby numer był widoczny na górze, **NASTĘPNIE** delikatnie potrząsnąć kuwetą, aby całkowicie zanurzyć je w roztworze buforowym.
5. Rozłożyć próbki i dodatnie próbki kontrolne zgodnie z planem dystrybucji, po 25 µl na kanał. Delikatnie potrząsnąć kuwetą po każdym nałożeniu. Umieścić kuwetę na platformie kołyszącej. **Inkubować przez 90 minuty** ± 5 minuty w temp. 20-26 °C.
6. Krok przemywania: Opróżnić kanały za pomocą pipety Pasteura lub poprzez odwrócenie kuwety inkubacyjnej. Nałożyć 2 do 3 mL rozcieńzonego roztworu buforowego do przemywania do każdego kanału. Inkubować na platformie kołyszącej przez 3 minuty. Powtórzyć dwukrotnie, następnie opróżnić zawartość kanałów. Zwrócić uwagę na to, aby paski nie odwróciły się podczas tych kroków.
7. Nałożyć 1,2 mL koniugatu anty-IgG (R3) do każdego kanału. Umieścić kuwetę na platformie kołyszącej **60 minuty** ± 5 minuty w temp. 20-26 °C.
8. Step przemywania: powtórzyć krok 6.
9. Nałożyć 1,2 ml substratu NBT/BCIP (R5) do każdego kanału. Umieścić na platformie kołyszącej i chronić przed bezpośrednim światłem **Inkubować przez 60 minuty** ± 5 minuty w temp. 20-26 °C.

Bez względu na parametr monitorować rozwój koloru. Rozwój można zatrzymać, jeśli kolor w tle paska ciemnieje do punktu, w którym odczyt jest utrudniony (jakość kroków przemywania ma istotny wpływ na kolor w tle). Proszę pamiętać, że paski będą jaśnieć w miarę wysychania.

10. Zatrzymać reakcję poprzez zassanie substratu za pomocą pipety Pasteura lub poprzez odwrócenie kuwety inkubacyjnej i nałożenie 2 ml wody destylowanej do kanałów. Jeszcze raz powtórzyć ostatni krok przemywania.
11. Suszenie pasków: Kiedy kanały będą nadal wypełnione wodą, chwycić paski pincetą za nienumerowany koniec i położyć ja na papierze absorpcyjnym Whatmana, tak aby numer był widoczny. Pozostawić do wyschnięcia. Kolor pasków zrobi się naturalnie jaśniejszy podczas suszenia. Interpretację można przeprowadzić dopiero po zakończeniu suszenia.
12. Przechowywanie: Przenieść paski na arkusz papieru, który zostanie użyty do ich archiwizacji. Wyrównać linie pozycjonujące. Przytrzymując je w miejscu za pomocą płaskiej linijki, przykleić górną część pasków przezrystą taśmą samoprzylepną.

W celu zapewnienia dobrej interpretacji, paski należy uporządkować według transferu i w porządku numerycznym, w odległości maksymalnie kilku milimetrów od siebie. Porównywanie pasków znajdujących się od siebie w dużej odległości (np. nr 2 z nr 15) nie jest wiarygodne. **Niebezpieczne jest** (falszywe wyniki) porównywanie pasków z różnych zestawów (paski o różnych numerach seryjnych).

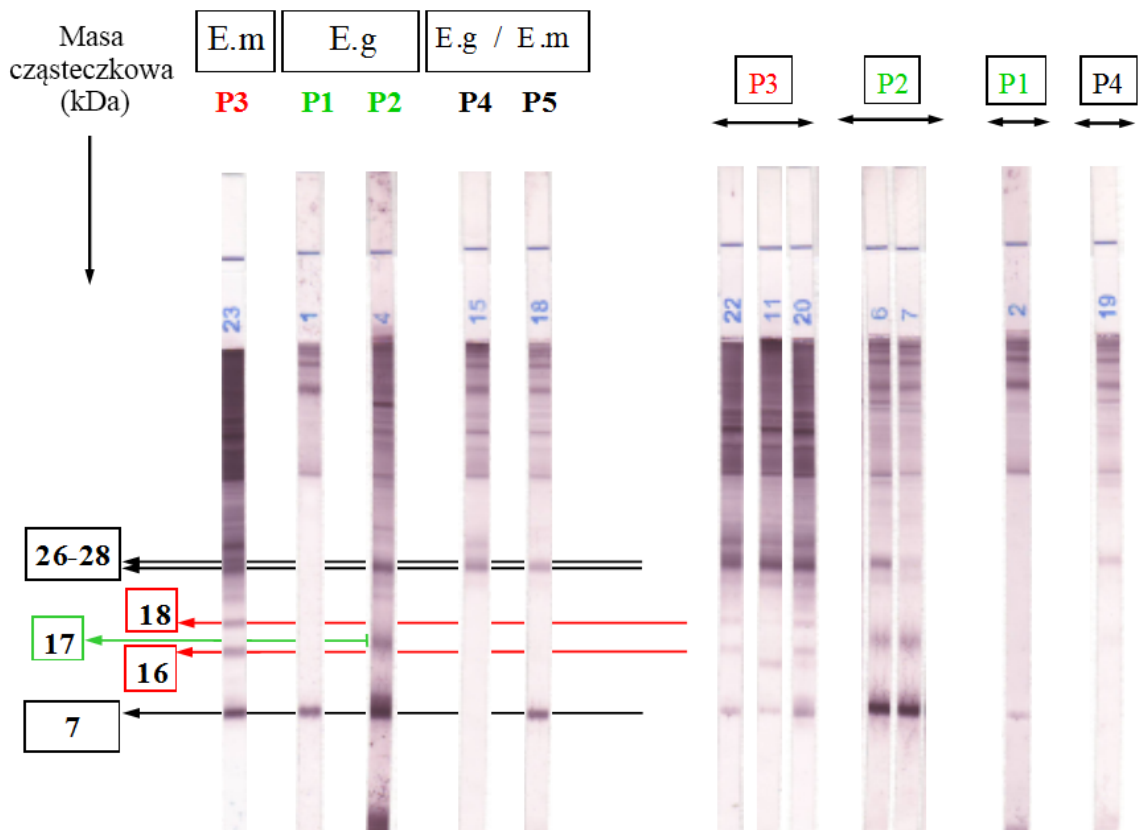
KONTROLA JAKOŚCI I INTERPRETACJA

Kontrolę surowicy (R10) dołączoną do zestawu należy systematycznie włączać do każdej serii testów Immunoblot. Pokazuje ona typowy profil i umożliwia techniczną walidację dobrego przeprowadzenia testu (pasma muszą być bardzo wyraźnie widoczne na pasku) i precyzyjną kalibrację pozycji i aspektu określonych pasm w celu umożliwienia interpretacji wyników uzyskanych na paskach z tego samego transferu (ten sam numer seryjny).

Uwaga: Profil kontroli pozytywnej (R10) może się różnić w zależności od numeru serii użytych odczynników. Odpowiednie obrazy są dostępne jako przykład na naszej stronie internetowej www.ldbiodiagnostics.com.

Opis pasm

- Obszar odczytu znajduje się w niższej połowie, pomiędzy 7 a 26-28 kDa. Pasma 26-28 kDa nazywa się tak, ponieważ mogą się w nim uwidaczniać różne aspekty: jedno wąskie pasmo (przy 26 lub 28 kDa), pasmo podwójne (26 and 28 kDa) lub duże pasmo pokrywające cały obszar od 26 do 28 kDa.
- Skrajne pasma 7 i 26-28 kDa służą do diagnozowania rodzaju *Echinococcus* (patrz poniżej: § Interpretacja I).
- Pasma pośrednie znajdujące się pomiędzy 7 a 26-28 kDa, jeśli są obecne, służą do diagnozowania gatunku *granulosus* lub *multilocularis* (patrz poniżej: § Interpretacja II)



Rys. 1: Przykłady wyników dodatnich i ujemnych

Profile są podane jako przykładowe. Paski oznaczone są literą "D" właściwą dla parametru z partii "03023".

Interpretacja

- Diagnoza rodzaju:
 - Obecność skrajnych pasm 7 i/lub 26-28 kDa
- Diagnoza gatunku:
 - Profil **P1** lub **P2**: *Echinococcus granulosus* (E.g)
 - Profil **P3**: *Echinococcus multilocularis* (E.m)
 - Profil **P4** lub **P5**: *E. multilocularis* lub *E. granulosus*

Interpretacja I

diagnoza rodzaju *Echinococcus*:

Wyszukiwanie obecności pasm 7 i/lub 26-28 kDa dla każdej testowanej próbki przy zastosowaniu narzędzi kalibracyjnych opisanych powyżej (te pasma są typowe i ogólnie bardzo łatwe do zlokalizowania).

Obecność skrajnych pasm 7 i/lub 26-28 kDa jest wymagana do interpretacji wyniku testu jako dodatniego i wyciągnięcia wniosku, że w badanej próbce obecne są przeciwciała przeciwko *Echinococcus* IgG.

Interpretacja II

diagnoza różnicująca gatunku *E. granulosus* vs. *E. multilocularis*:

Diagnozę przeprowadza się poprzez wyszukiwanie określonych pasm swoistych dla jednego lub drugiego gatunku w obszarze pośrednim pomiędzy 7 a 26 kDa.

- Wspólne pasma dla obu gatunków: 12, 15, 20, 24 kDa
- Wąskie pasma występujące tylko w *E. multilocularis*: 16, 17, 18 kDa
- Pasma obecne tylko dla *E. granulosus*: duże rozproszone pasmo przy 17 kDa.

Można znaleźć 5 różnych profili.

- Profile P1, P2 i P3 (stwierdzane w 70% przypadków) diagnozują gatunek:

<p>PROFIL P1: Izolowany tylko pasmo 7 kDa.</p>	<p><i>Echinococcus granulosus</i></p>
<p>PROFIL P2: Pasma 7 kDa + duże rozproszone pasmo 17 kDa. (Proszę zauważyć: pasmo 26-28 kDa jest bardzo często również obecne.)</p>	<p><i>Echinococcus granulosus</i></p>
<p>PROFIL P3: Pasma 26-28 + wąskie pasma 16 i/lub 18 kDa. (Proszę zauważyć: większość pozostałych pasm 7, 12, 15, 17, 20 lub 24 kDa jest bardzo często również obecna.)</p>	<p><i>Echinococcus multilocularis</i></p>

- Ostatnie 2 profile, P4 i P5 (stwierdzane w 30% przypadków) nie rozróżniają 2 gatunków *E. granulosus* i *E. multilocularis*.

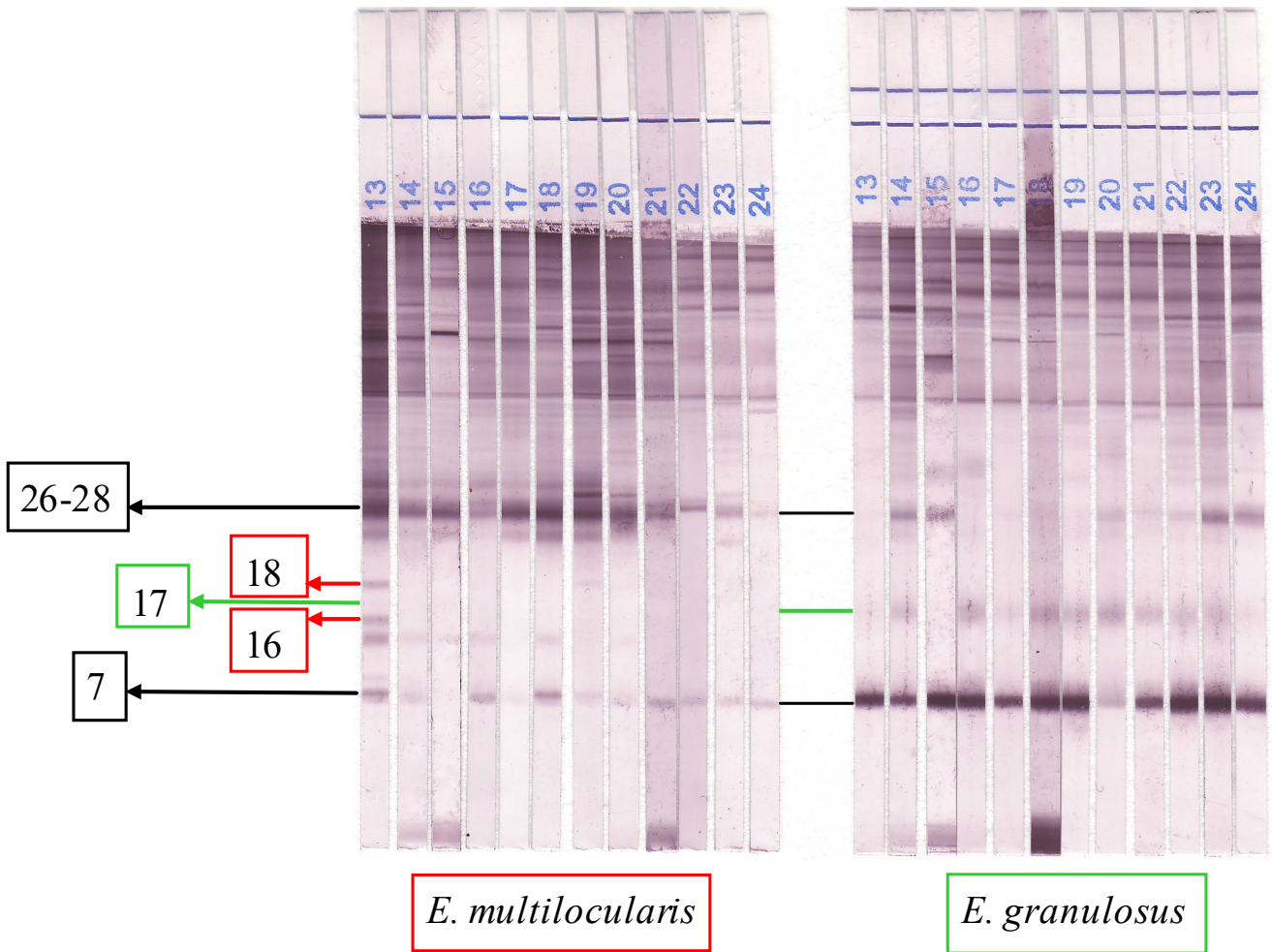
<p>PROFIL P4: izolowany tylko pasmo 26-28 kDa.</p>	<p>BRAK pasma pośredniego</p>
<p>PROFIL P5: skojarzenie pasm 7 + 26-28 kDa</p>	<p>BRAK pasma pośredniego</p>

Uwaga 1: Izolowana obecność jednego lub większej liczby pasm pośrednich (12, 15, 16, 17, 18, 20 lub 24 kDa) nie może zostać uznana za swoistą. Te pasma nigdy nie są widoczne jako izolowane w przypadku bąblowicy lecz są zawsze skojarzone z pasmami 7 kDa i/lub 26-28 kDa.

Uwaga 2: Pasma powyżej i, rzadziej, poniżej obszaru 7-28 kDa są bardzo często obecne. Nie należy ich wykorzystywać do interpretacji testu.

Uwaga 3: Wyjątkowo, pasmo 16 kDa było większe niż zazwyczaj u pacjenta zakażonego *E. multilocularis*. Należy uważać, aby nie pomylić tego pasma z dużym pasmem 17 kDa, które jest swoiste dla *E. granulosus*.

Uwaga 4: Pasma pośrednie są mniej intensywne niż pasma 7 i 26-28 kDa. Odpowiedni rozwój często wymaga inkubacji w substracie przez 60 minut. Tego procesu nie należy zbyt szybko przerywać.



Rys. 2: Dodatkowe przykłady dodatnich próbek Immunoblot pochodzących od pacjentów zakażonych *E. multilocularis* i *E. granulosus*.

Profile są podane jako przykładowe. Paski oznaczone są literą "D" właściwą dla parametru z partii "03023".

Te próbki zostały specjalnie wybrane, aby reprezentowały słaby wynik dodatni: wszystkie profile *E.m* są niekompletne (z wyjątkiem pierwszego paska, nr 13).

Warto zauważyć przeciwieństwo profili zazwyczaj stwierdzanych u każdego gatunku:
E. multilocularis: Pasma 26-28 kDa często pojawia się w formie pasma podwójnego i jest najbardziej intensywne.
E. granulosus: przeciwnie, najbardziej intensywne jest pasmo 7 kDa.

Ta zasada nie obowiązuje jednak bezwzględnie (np. pasmo *E. m* nr 24 - pasmo *E. g* nr 20)

Aby przeprowadzić walidację wyników, należy za każdym razem porównać wynik Immunoblot każdej próbki z wynikiem dodatniej kontroli R10. Aspekt pasm jest ważny podczas interpretacji testu.

OGRANICZENIA ZASTOSOWANIA

- Diagnozy choroby zakaźnej nie można ustalić na podstawie jednego wyniku testu.
- Wyniki serologiczne należy interpretować zgodnie z dostępnymi informacjami (np. epidemiologiczne, kliniczne, obrazowe, biologiczne itp.) w celu ustalenia diagnozy. Nie powinny być one wykorzystywane jako podstawa do diagnozy tylko na podstawie ich pozytywnego wyniku.

WYDAJNOŚĆ (patrz bibliografia)

Czułość (Sensitivity, Se)

Wielośrodkowe badanie, przeprowadzone w dwóch niezależnych specjalistycznych laboratoriach i obejmujące 111 próbek surowicy pobranych od pacjentów (50 przypadków bąblowicy i 61 przypadków bąblowicy pęcherzykowej z potwierdzonym rozpoznaniem) dało następujące wyniki:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: uzyskane profile					
	Ujemny	P1	P2	P3	P4	P5
Bąblowica (n=50)	1	12	22	0	1	14
Bąblowica pęcherzykowa (n=61)	2	0	0	41	7	11
Ogółem (n=111)	3	12	22	41	8	25

Tabela 1: Czułość testu i uzyskane profile

Czułość testu: **Se = 97,3% dla rodzaju *Echinococcus***
Se = 98% dla gatunku *E. granulosus*
Se = 96,7% dla gatunku *E. multilocularis*

Diagnoza gatunku: *E. granulosus* vs. *E. multilocularis*:

Tabela 1 powyżej umożliwia obliczenie zdolności rozróżnienia między tymi dwoma gatunkami **67,6%** (profile P1 + P2 + P3).

Swoistość - reakcje krzyżowe

147 próbek surowicy, od **147** pacjentów, były testowane za pomocą zestawu **ECHINOCOCCUS WB IgG** w dwóch laboratoriach.

Do badania zostały włączone próbki surowicy od pacjentów cierpiących na następujące choroby: neurowągryzycę *Taenia solium* (42), schistosomatozę (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) oraz następujące choroby autoimmunologiczne: RF czynnik reumatoidalny (8), ANA przeciwciała przeciwjądrowe (12).

139 próbek surowicy jest negatywnych, wykazując **94.6%** swoistość w tej populacji.

8 reakcji krzyżowych zaobserwowano wyłącznie dla:

- wągryzycy: obecność izolowanego pasma 7 kDa u 5/42 pacjentów.
- choroby autoimmunologiczne: obecność izolowanego wąskiego pasma przy 28 kDa u 1/8 pacjentów (FR+) i 2/12 pacjentów z ANA+.

Proszę zauważyć: Motylca wątrobowa: obecność izolowanego, bardzo dużego pasma (25-30 kDa) stwierdzono u 4/10 badanych pacjentów, nie można go jednak pomylić z pasmem 26-28.

Wniosek

Korelacja między WB Echinococcus a stanem klinicznym jest doskonała.

Czułość Se = 97,3% [CI95 91,7 - 99,3%]

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

Ponadto, WB pozwala na diagnostykę różnicową próbek dodatnich z bardzo specyficznym profilem dla *E. multilocularis* i *E. granulosus*.

Profil *E. multilocularis* (profil P3)

Czułość = 67,2% [CI95 53,9-78,4%] Swoistość w stosunku do *E. granulosus* = 100% [91,1 - 100%].

Profil *E. granulosus* (profile P1 i P2)

Czułość = 68% [CI95 53,2 - 80,1%] Swoistość w stosunku do *E. multilocularis* = 100% [92,6 - 100%]. Uwaga: Profil P1 został jednak stwierdzony w 5 przypadkach (z 42) cysticerkozy.

Przedziały ufności obliczane są zgodnie z metodą Wilsona z poprawką na ciągłość.

Odtwarzalność

Przetestowano odtwarzalność pomiędzy seriami i partiami. W obu przypadkach korelacja surowicy do surowicy w odniesieniu do swoistych pasm jest doskonała.

Interferencje

Nawet jeśli nie zaobserwuje się szczególnych reakcji krzyżowych w zhemolizowanych, ikteryicznych lub lipemicznych próbkach surowicy, zaleca się ostrożną interpretację wyników uzyskanych z takich próbek.

ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW

„Pasma są blade z niewielkim kontrastem”: Pewne próbki surowicy z niewielkim stężeniem przeciwciał mogą dawać takie wyniki.

„Są widoczne obszary zacięzione, mniej lub bardziej wybarwione, nieco rozproszone”: Pasek nie był całkowicie zanurzony w jednym z odczynników i inkubacja nie przebiegła prawidłowo na całej długości paska. Plamy mogą być również obecne, jeśli próbka została umieszczona w kuwecie, która nie została odpowiednio wytrząśnięta po umieszczeniu w niej próbki.

„Szum jest istotny i bardzo utrudnia odczyt”: Przemycanie było niewystarczające lub ostatnia inkubacja trwała zbyt długo. Zapewnić dobre techniki testowania, przestrzegać czasów przemycania i zapewnić odpowiednią jakość wody. Skrócić czas ostatniej inkubacji. W wyjątkowych sytuacjach, pewne próbki surowicy mogą reagować w sposób nieswoisty. W takiej sytuacji wyniku testu Immunoblot nie można wykorzystać. Nieswoisty szum może występować tylko na fragmencie paska, uniemożliwiając interpretację wyników tylko dla tego fragmentu.

„W roztworze pojawia się strąć podczas ostatniego kroku rozwoju”: substrat może rzeczywiście ulec wytrąceniu (czarne płatki) w roztworze buforowym pod koniec rozwoju. To zjawisko nie wpływa na jakość rozwoju, który

BIBLIOGRAFIA

- 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.

POWIADOMIENIE O AKTUALIZACJI - przeczytaj uważnie

DATA WYDANIA	WERSJA	PODSUMOWANIE MODYFIKACJI
30/11/2022	Vs16	Nowy adres
07/12/2022	Vs17	R6 bez NaN3. Pasek oznaczony literą D. Możliwe użycie odczynników z różnych partii.



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