

LEISHMANIA

CE



Western Blot IgG

Diagnostyka *in vitro* Test immunoblotu
Technika półautomatyczna / ręczna

#LES-WB24G: 24 testów

#LES-WB12G: 12 testów

#LES-WB96G: 96 testów

INSTRUKCJA UŻYCIA

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

Przeznaczenie

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

Zasada działania testu

Technika Western Blot

Antygeny *Leishmania infantum*, 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.

Odczynniki znajdujące się w zestawie:

Domyślnie: pakiet 24 testów (#LES-WB24G)

kursywa: pakiet 12 testów (*nr LES-WB12G*) – **tlusty druk**: Pakiet 96 testów (**nr LES-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 + NaN ₃ (<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>leishmaniozy</i> + NaN ₃ (<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 kołysząca 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), przeźroczysta taśma klejąca.
- Rękawice, pinceta do przenoszenia pasków, obcinak lub skalpel, płaska przeźroczysta 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 skażenia 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 mieszkankę 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 fiolki po użyciu, nie używać, jeśli do odczynników wprowadzono przypadkiem inną substancję. Nie używać odczynnika z fiolki 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 fiolek 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, przeźroczystej 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 rozcieńczonego 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 jaśniejsze 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. Porównywania pasków znajdujących się od siebie w dużej odległości (np. nr 2 z nr 15) nie jest wiarygodne. **Niebezpieczne jest** (fałszywe wyniki) porównywanie pasków z różnych zestawów (paski o różnych numerach seryjnych).

Kontrola jakości i interpretacja:

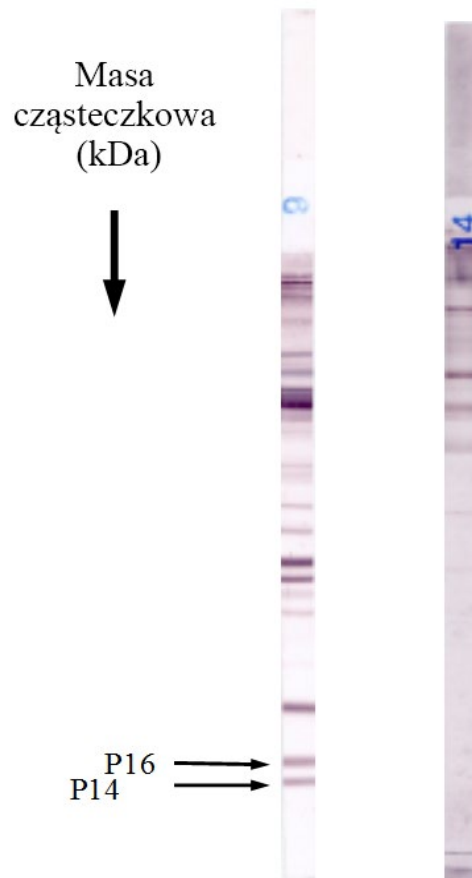
Kontrolę surowicy (R10) dołączoną do zestawu należy systematycznie włączać do każdej serii testów Immunoblot. Pokazuje ona typowy profil i umożliwia techniczną walidację dobrego przeprowadzenia testu (pasma muszą być bardzo wyraźnie widoczne na pasku) i precyzyjną kalibrację pozycji i aspektu określonych 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

Próbka dodatnia może zawierać różne pasma mieszczące się pomiędzy 8 a 200k kilodaltonami (kDa). Niektóre z nich są swoiste dla leishmaniozy. Jednak trudności w zlokalizowaniu ich w środku innych pasm bez zdecydowanej swoistości są ich słabym punktem.

Wyszukiwanie obecności pasm 14 i 16 kDa dla każdej testowanej próbki przy zastosowaniu narzędzi kalibracyjnych opisanych powyżej. Te pasma, znajdujące się a dole paska i na ogół dobrze izolowane są na ogół bardzo łatwe w interpretacji.



Rys. 1: Przykłady wyników dodatnich i ujemnych

Profile są podane jako przykładowe. Paski oznaczone są literą "C" właściwą dla parametru z partii "02007".

Interpretacja

Obecność na pasku pasma antygenowego 14 kDa i/lub 16 kDa pozwala zinterpretować wynik testu jako dodatni i potwierdzić obecność przeciwciał skierowanych przeciwko Leishmania IgG w badanej próbce.

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.

Negatywny wynik nie wyklucza diagnozy leishmaniozy trzewnej, w szczególności u pacjentów z nieprawidłową odpowiedzią immunologiczną. Wszelkie podejrzenia leishmaniozy muszą automatycznie prowadzić do wykonania parazytologicznego wyszukiwania pierwotniaków.

WYDAJNOŚĆ (patrz bibliografia)

Test **LEISHMANIA WB IgG** był przedmiotem badania porównawczego z technikami IFA i ELISA w niezależnym laboratorium.

Czułość:

	IFA	ELISA	WB
DODATNI	41	40	51
UJEMNY	10	11	0

Tabela 1: Przebadano 51 próbek surowicy od uczestników cierpiących na progresywną leishmaniozę trzewną przy zastosowaniu tych 3 technik. Testy ELISA i IFA wykazywały fałszywe wyniki ujemne, w szczególności u pacjentów o osłabionej odporności (HIV)

	IFA	ELISA	WB
DODATNI	0	0	15
UJEMNY	20	20	5

Tabela 2: 20 próbek surowicy od zdrowych, żyjących pacjentów w obszarze endemicznym i wykazujących dodatni wynik na teście wrażliwości skóry było testowanych równoległe z trzema technikami: czułość testów IFA i ELISA jest niewystarczająca do wykrycia bardzo niskich poziomów przeciwciał.

Swoistość:

	IFA	ELISA	WB
DODATNI	0	0	0
UJEMNY	30	30	30

Tabela 3: 30 próbek surowicy od zdrowych, dorosłych pacjentów w obszarze nieendemicznym było testowanych równoległe z testami Immunoblot, ELISA i IFA w niezależnym laboratorium: swoistość tych trzech technik wyniosła 100%.

Proszę zauważyć: Fałszywe dodatnie reakcje są często stwierdzane, bez względu na technikę, u pacjentów cierpiących na trypanosomiazę (*T. cruzi*).

Wniosek

Błona podstawna ma doskonałą czułość, która pozwala na skuteczne wykrywanie pacjentów z leishmaniozą trzewną nawet w kontekście immunodepresji.

Pozwala ona na wykrycie bezobjawowych nosicieli przy jednoczesnym zachowaniu doskonałej specyficzności, o czym świadczy brak dodatnich surowic u pacjentów nieendemicznych.

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

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

Interwały ufności są obliczane według metody Wilsona z korektą ciągłości.

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, ikterycznych 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 zacienione, 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 strął 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 należy kontynuować normalnie. Ostatnie przemycanie wodą destylowaną eliminuje obecność cząstek stałych.

Bibliografia

- 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.

POWIADOMIENIE O AKTUALIZACJI - przeczytaj uważnie

DATA WYDANIA	WERSJA	PODSUMOWANIE MODYFIKACJI
02/08/2021	Vs 15	Usunięcie ostrzeżenia dotyczącego bezpieczeństwa R5 - Kontaktowy adres e-mail – NaN3 EUH 032.
24/10/2022	Vs16	R6 bez NaN3. Pasek oznaczony literą C. Możliwe użycie odczynników z różnych partii.
30/11/2022	Vs17	Nowy adres



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