

ECHINOCOCCUS



Western Blot IgG

Diagnóstico *in vitro* Ensaio Immunoblot
Técnica manual / semi-automática

#ECH-WB24G : 24 testes

#ECH-WB12G : 12 testes

#ECH-WB96G : 96 testes

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Encontre mais informações e instruções de uso no seu idioma no nosso site
www.ldbiodiagnostics.com

Utilização pretendida

ECHINOCOCCUS Western Blot (WB) IgG é um teste qualitativo de uso único de diagnóstico serológico de IgG por immunoblot para a equinococose alveolar e a hidatidose, concebido para ser um teste confirmatório de um resultado positivo ou equívoco obtido através dos testes clássicos de despiste.

Princípio do teste

Técnica de Western Blot

Os antígenos (larvas de *Echinococcus multilocularis*), uma vez separados por eletroforese, são ligados por electroblotting à superfície de uma membrana de nitrocelulose (a que se chama a transferência) cortada em 24 tiras numeradas de 1 a 24.

Condução do teste

Cada amostra de soro a testar é incubada separadamente com uma tira. Os anticorpos anti-*Echinococcus* potencialmente presentes na amostra ligam-se seletivamente aos antígenos de *E. multilocularis*. O conjugado fosfatase alcalina-anti IgG humana liga-se então aos anticorpos anti-*Echinococcus*. Por fim, os imunocomplexos reagem com o substrato. Os antígenos reconhecidos pelos anticorpos anti-*Echinococcus* do tipo IgG presentes nas amostras são revelados como bandas transversais de cor roxa.

Reagentes fornecidos

Padrão: embalagem de 24 testes (#ECH-WB24G)

italic: embalagem de 12 testes (#ECH-WB12G) - **bold**: Embalagem de 96 testes (#ECH-WB96G).

ID	Quant.	Descrição	Composição
R1	1	Pasta(s) de 24 (12, 4x24) TIRAS: padrões pré-cortados + coloridos. (Cada pasta e cada transferência é identificada por um número de série único)	Nitrocelulose sensibilizada. Peso molecular colorido (kDa): Azul: 250, Azul: 150, Azul: 100, Rosa: 75, Azul: 50, Verde: 37, Rosa: 25, Azul: 20, Azul: 15, Amarelo: 10.
R2	1	Frasco de 30 (30, 125) ml de TAMPÃO DA AMOSTRA (Pronto a utilizar - solução rosa).	Tampão + surfactante.
R3	1	Frasco(s) de 30 (30, 2x60) ml de CONJUGADO ANTI IgG (Pronto a utilizar - solução azul).	Tampão + conjugado de soro de cabra policlonal anti-IgG humana com fosfatase alcalina + NaN3 (<0,1%) + estabilizantes.
R5	1	Frasco de 30 (30, 125) ml de SUBSTRATO (Pronto a utilizar - frasco castanho opaco).	Tampão + NBT + BCIP + estabilizantes
R6	1	Frasco de 60 (60, 250) ml de TAMPÃO DE LAVAGEM CONCENTRADO 10x (A diluir 10 vezes em água destilada - solução incolor).	Tampão + surfactante.
R10	1	Tubo de 200 (200, 2x200) µl de SORO DE CONTROLO POSITIVO (Pronto a utilizar - tampa vermelha).	Tampão + conjunto de soros humanos positivos para <i>E. multilocularis</i> por serologia + NaN3 (<0,1%) + estabilizantes.

R1: A letra antes de cada número de tira é específica para o parâmetro.

R2, R3, R5 e R6 são comuns a todos os kits e possuem um número de lote único, dependendo apenas da sua data de produção. **É recomendado efetuar séries multiparamétricas (ver gama de immunoblot LDBIO) a fim de limitar o número de frascos abertos e de assegurar um melhor controlo de qualidade.**

R10 é calibrado em immunoblot de acordo com um lote de referência e é dedicado apenas a esta técnica.

R3, R10 (NaN₃): EUH 032 - Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.

EUH 210 Ficha de segurança fornecida a pedido bem como no nosso site www.ldbiodiagnostics.com.

Material necessário mas não disponibilizado

- Tabuleiros de incubação multicanal em polipropileno para mini-blots (#WBPP-08 ou equivalente).
- Plataforma oscilatória para immunoblots, sistema de vácuo para líquidos (os tubos #WBPP-08 que fornecemos podem ser esvaziados por simples inversão).
- Tubos e material para recolher as amostras, cilindros graduados, contentores adaptados. Pipetas automáticas, micropipetas e pontas descartáveis (volumes de 25 µl, 1,2 ml e 2 ml).
- Água destilada ou desionizada. Papel absorvente (por ex. papel de filtro Whatman), fita adesiva transparente.
- Luvas, pinça para manipular as tiras, cortador ou bisturi, régua plana transparente.

Nota: Os nossos reagentes podem ser utilizados num processador automático de immunoblots. **Devem tomar-se precauções relativamente a possíveis contaminações químicas dos nossos reagentes se o processador for partilhado com reagentes de outro fabricante** (exemplo conhecido: contaminação por TWEEN 20) e a possíveis contaminações bacterianas. Frascos de reserva para o processador. Depois do processamento, não voltar colocar os restos de reagentes utilizados nos frascos originais.

Conservação e estabilidade

Conservar entre 2 e 8 °C. Os reagentes do kit são estáveis até à data de validade indicada na embalagem exterior e nos rótulos dos frascos. Não use reagente contaminado ou turvo. O tampão de lavagem diluído a 1:10 é estável durante 2 meses a +2 a +8 °C e uma semana à temperatura ambiente.

Cuidados na utilização

Segurança

- Apenas para utilização *in vitro*. Apenas para uso profissional. Apenas para pessoal treinado tecnicamente. Manusear de acordo com as Boas Práticas Laboratoriais e considerar todos os reagentes e todas as amostras como potencialmente tóxicos e/ou infecciosos.
- Usar bata, luvas e óculos: não beber, comer ou fumar no laboratório. Não pipetar com a boca.
- O controle positivo é um soro de origem humana que foi inativado para os vírus HIV 1 e 2, hepatite B e hepatite C. Contudo, deve ser manuseado como um produto potencialmente infeccioso.
- O substrato contém uma mistura de NBT e BCIP, tóxica por contacto (pele e mucosas) e por inalação.
- Os reagentes contêm azida de sódio, que pode formar sais metálicos explosivos com o chumbo e o cobre. Enxaguar qualquer derrame com água.
- Eliminar os resíduos (amostras, pontas, tubos, líquido de lavagem, reagentes usados, ...) de acordo com as boas práticas utilizadas na indústria e as regulamentações atuais do país.
- Qualquer incidente grave deve ser objeto de declaração ao fabricante e às autoridades competentes.

Cuidados

- Leia e interprete os resultados sob luz branca direta.
- É preferível utilizar todos os reagentes de um mesmo lote. Se forem utilizados lotes diferentes, assegurar a rastreabilidade.
- Utilizar as tiras por ordem numérica. Não misturar tiras com diferentes números de série; utilizar as transferências em sequência. Estabelecer um plano de distribuição específico antes de iniciar o teste.
- Não tocar nas tiras com os dedos; utilizar uma pinça.
- Os reagentes devem ser bem misturados antes da utilização, em especial o tampão de lavagem concentrado.
- Fechar os frascos após a utilização; não utilizar se tiver ocorrido introdução acidental de uma substância nos reagentes. Não utilizar reagente de um frasco que apresente sinais de vazamento. Não utilizar soluções turvas ou precipitadas.
- Utilizar apenas pontas de pipeta descartáveis. Evitar qualquer contaminação entre canais. Ter atenção à formação de espuma ou bolhas nas pontas de pipeta (contaminação bacteriana dos frascos de reagentes).
- Lavar os tabuleiros de incubação apenas com água limpa seguida de água destilada (nunca utilizar detergente ou lixívia).
- A omissão de uma amostra ou a distribuição de um volume inadequado pode tornar o teste negativo ou positivo, independentemente do seu verdadeiro estado.

Recolha de amostras

Colher as amostras em tubos secos, de forma asséptica. É necessário um mínimo de 25 µl de soro.

Manter as amostras a 2 a 8 °C até serem processadas. Se for necessário armazená-las por mais de uma semana, congelar as amostras a -20 ± 5 °C. Não utilizar uma amostra contaminada. Evitar congelar e descongelar as amostras repetidamente.

Embora não tenha sido observada nenhuma reação cruzada especial com soro hemolizado, ictérico ou lipídico, é recomendado interpretar os resultados da utilização deste tipo de amostras com cuidado.

Preparação dos reagentes

Tampão de lavagem: Para 4 testes, num frasco limpo, diluir 10 ml de concentrado de lavagem 10x (**R6**) em 90 ml de água destilada ou desionizada. Tenha o cuidado de misturar bem o tampão diluído.

Procedimento do teste

Nota importante: É recomendado efetuar séries multiparamétricas (ver gama de immunoblot LDBIO) a fim de limitar o número de frascos abertos e de assegurar um melhor controlo de qualidade.

1. Preparar o plano de distribuição das amostras e do controlo positivo C+ (**R10**).

O teste só pode ser tecnicamente validado e a identificação feita, para um determinado número de série, ou reveladas as bandas específicas, através da utilização deste controlo. Uma tira C+ não pode ser usada para interpretar os resultados das tiras de um blot com um número de série diferente.

2. Cortar o número necessário de tiras (R1) utilizando um bisturi e uma régua plana transparente limpa e seca, mantendo a linha azul de posicionamento nas tiras: manter as tiras firmemente no seu lugar com a régua e cortá-las pelo lado da tensão (os números são visíveis através da régua).
3. Distribuir 1,2 ml de tampão da amostra (R2) em cada canal, de acordo com o plano estabelecido.
4. Deixe as tiras se reidratarem na superfície do tampão por aproximadamente 2 minutos, com o número visível no topo, ENTÃO, agite suavemente a bandeja para mergulhá-las totalmente no tampão
5. Distribuir as amostras e controlo(s) positivo(s): de acordo com o plano de distribuição, a uma taxa de 25µl por canal. Agitar suavemente o tabuleiro após cada dispensa. Colocar o tabuleiro numa plataforma oscilatória. **Incubar durante 90 min.** ± 5 min. a 20 a 26 °C.
6. Passo de lavagem: Esvaziar o conteúdo dos canais com uma pipeta de Pasteur ou voltando o tabuleiro de incubação ao contrário. Verter 2 a 3 ml de tampão de lavagem diluído em cada canal. Incubar na plataforma oscilatória durante 3 min. Repetir duas vezes e, em seguida, esvaziar o conteúdo dos canais. Assegurar que as tiras não se voltam durante estes passos.
7. Verter 1,2 ml de conjugado anti IgG (R3) em cada canal. Colocar o tabuleiro na plataforma oscilatória. **Incubar durante 60 min.** ± 5 min. a 20 a 26 °C.
8. Passo de lavagem: repetir o passo 6.
9. Deitar 1,2 ml de substrato NBT/BCIP (R5) em cada um dos canais. Colocar na plataforma oscilatória e proteger da luz direta. **Incubar durante 60 min.** ± 5 min. a 20 a 26 °C.

Independentemente do parâmetro, monitorizar a revelação da cor. A revelação pode ser interrompida se a cor de fundo da tira escurecer de tal modo que a leitura seja difícil (a qualidade dos passos de lavagens possui uma influência fundamental na cor de fundo). Ter em atenção que as tiras ficarão mais claras quando secas.

10. Interromper a reação, aspirando o substrato com uma pipeta de Pasteur ou voltando a tina de incubação ao contrário e deitando 2 ml de água destilada nos canais. Repetir este último passo de lavagem mais uma vez.
11. Secagem das tiras: Com os canais ainda cheios de água, pegar nas tiras pela extremidade numerada utilizando uma pinça e depositá-las, com o número visível, sobre um papel absorvente de Whatman. Deixar secar ao ar. A cor das tiras aclarará naturalmente enquanto secam. A interpretação só deve ser feita depois de concluída a secagem.
12. Conservação: Transferir as tiras para uma folha de papel, que será utilizada para as arquivar. Alinhar as linhas de posicionamento. Mantendo-as no lugar com a régua plana, colar a extremidade superior das tiras com a fita adesiva transparente.

Para uma boa interpretação, as tiras deve ser ordenadas por transferência e pela sua ordem numérica, espaçadas com um máximo de alguns milímetros entre si. Não é fiável comparar tiras que estejam muito afastadas (por ex. a nº 2 com a nº 15). **É perigoso** (resultados falsos) comparar tiras de diferentes kits (tiras com números de série diferentes).

Controlo de qualidade e interpretação

O controlo do soro (R10) disponibilizado com o kit deve ser sistematicamente incluído em qualquer série de imunoblot. Ele mostra o perfil típico e permite a validação técnica da boa execução do teste (as bandas devem aparecer muito distintamente na tira) e calibrar exatamente a posição e aspeto das bandas específicas de modo a permitir a interpretação dos resultados das tiras da mesma transferência (mesmo número de série).

Nota Bene: O perfil de controlo positivo (R10) pode variar de acordo com o número de lote dos reagentes utilizados. As imagens correspondentes estão disponíveis no nosso website www.ldbiodiagnostics.com como exemplo.

Descrição das bandas

- A zona de leitura situa-se na metade inferior da tira, entre 7 e 26-28 kDa. A banda 26-28 kDa é assim denominada porque se pode apresentar sob diferentes aspetos: simples banda fina (de 26 ou 28 kDa), banda dupla (26 e 28 kDa) ou banda larga abrangendo toda a zona de 26 a 28 kDa.
- As bandas extremas 7 e 26-28 kDa são utilizadas no diagnóstico do género *Echinococcus* (ver abaixo: parágrafo Interpretação I).
- As bandas intermédias, situadas entre 7 e 26-28 kDa são utilizadas, quando estão presentes, no diagnóstico de espécie, *granulosus* ou *multilocularis* (ver abaixo: parágrafo Interpretação II).

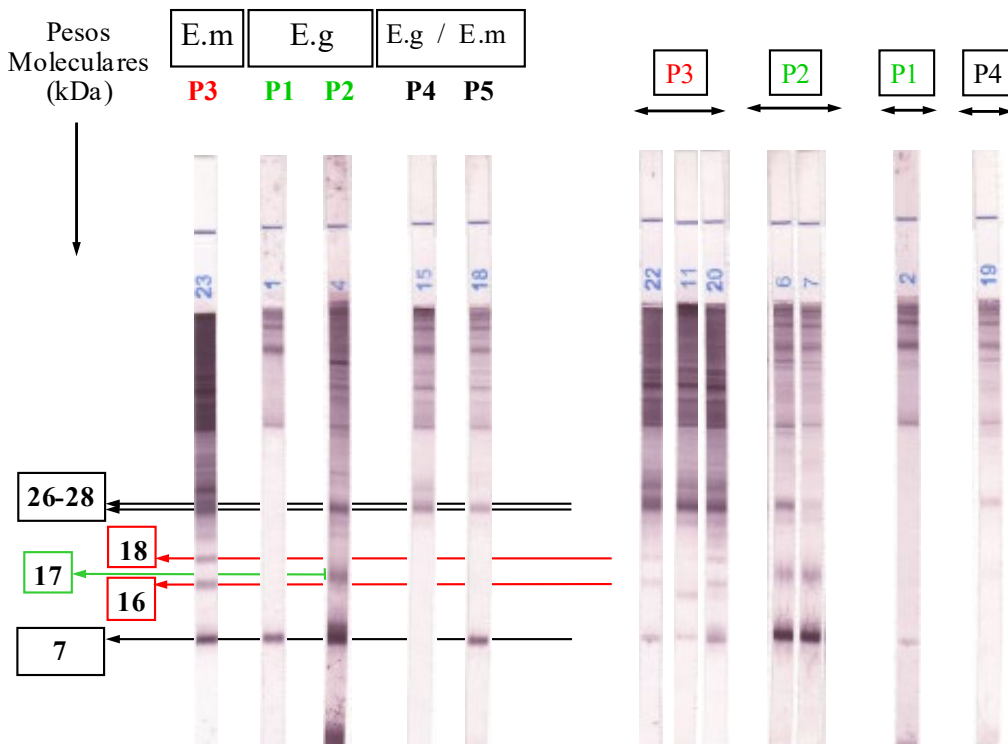


Fig. 1: Exemplos de resultados positivos e negativos

Os perfis são dados como exemplos. As tiras são marcadas com a letra "D" específica do parâmetro do lote "03023".

Interpretação

- Diagnóstico do género:
 - presença das bandas extremas 7 e/ou 26-28 kDa
- Diagnóstico de espécie:
 - Perfis P1 ou P2: *Echinococcus granulosus* (E.g)
 - Perfil P3: *Echinococcus multilocularis* (E.m)
 - Perfis P4 ou P5: *E. multilocularis* ou *E. granulosus*

Interpretação I diagnóstico do género *Echinococcus*:

Pesquisar a presença das bandas 7 e/ou 26-28 kDa para cada uma das amostras testadas com a ajuda dos instrumentos de calibragem descritos acima (estas bandas são características e geralmente muito facilmente observáveis).

A presença das bandas extremas 7 e/ou 26-28 kDa é obrigatória para permitir interpretar o teste como positivo e concluir a presença de anticorpos IgG anti-*Echinococcus* na amostra testada.

Interpretação II diagnóstico diferencial de espécie *E. granulosus* relativamente a *E. multilocularis*:

É feito pela pesquisa das bandas específicas de uma ou da outra espécie na zona intermédia entre 7 e 26 kDa.

- Bandas comuns às duas espécies: 12, 15, 20, 24, kDa
- Bandas finas unicamente encontradas com a *E. multilocularis*: 16, 17, 18, kDa
- Banda encontrada unicamente com a *E. granulosus*: uma banda larga difusa de 17 kDa.

É possível encontrar 5 perfis diferentes.

- Os perfis P1, P2 e P3 (encontrados em 70% dos casos) permitem o diagnóstico de espécie:

<p>PERFIL P1: Apenas banda 7 kDa isolada.</p>	<p><i>Echinococcus granulosus</i></p>
<p>PERFIL P2: Banda 7 kDa + banda larga difusa 17 kDa. (Nota: a banda 26-28 kDa está igualmente presente muito frequentemente.)</p>	<p><i>Echinococcus granulosus</i></p>
<p>PERFIL P3: Banda 26-28 + as bandas finas 16 e/ou 18 kDa. (Nota: a maioria das outras bandas 7, 12, 15, 17, 20, 24 kDa estão igualmente presentes com muita frequência.)</p>	<p><i>Echinococcus multilocularis</i></p>

- Os 2 últimos perfis P4 e P5 (encontrados em 30% dos casos) não permitem diferenciar as 2 espécies *E. granulosus* e *E. multilocularis*.

<p>PERFIL P4: apenas banda 26-28 kDa isolada.</p>	<p>AUSÊNCIA de banda intermédia</p>
<p>PERFIL P5: associação bandas 7 + 26-28 kDa</p>	<p>AUSÊNCIA de banda intermédia</p>

Observação 1: A presença isolada de uma ou várias das bandas intermédias (12, 15, 16, 17, 18, 20, 24 kDa) não pode ser considerada como específica. Estas bandas nunca são encontradas isoladas no caso de uma equinocose, mas sim sempre associadas à banda 7 kDa e/ou 26-28 kDa.

Observação 2: Muito frequentemente estão presentes bandas sobre e sob a zona 7-28 kDa. Estas não devem ser utilizadas na interpretação do teste.

Observação 3: excepcionalmente a banda 16 kDa apareceu mais larga do que é habitual num doente infetado por *E. multilocularis*. Ter o cuidado de não confundir esta banda com a banda 17 kDa específica de *E. granulosus*.

Observação 4: as bandas intermédias são menos intensas do que as bandas 7 e 26-28 kDa. A sua boa revelação requer frequentemente uma incubação de 60 minutos no substrato. Não a interromper demasiado cedo.

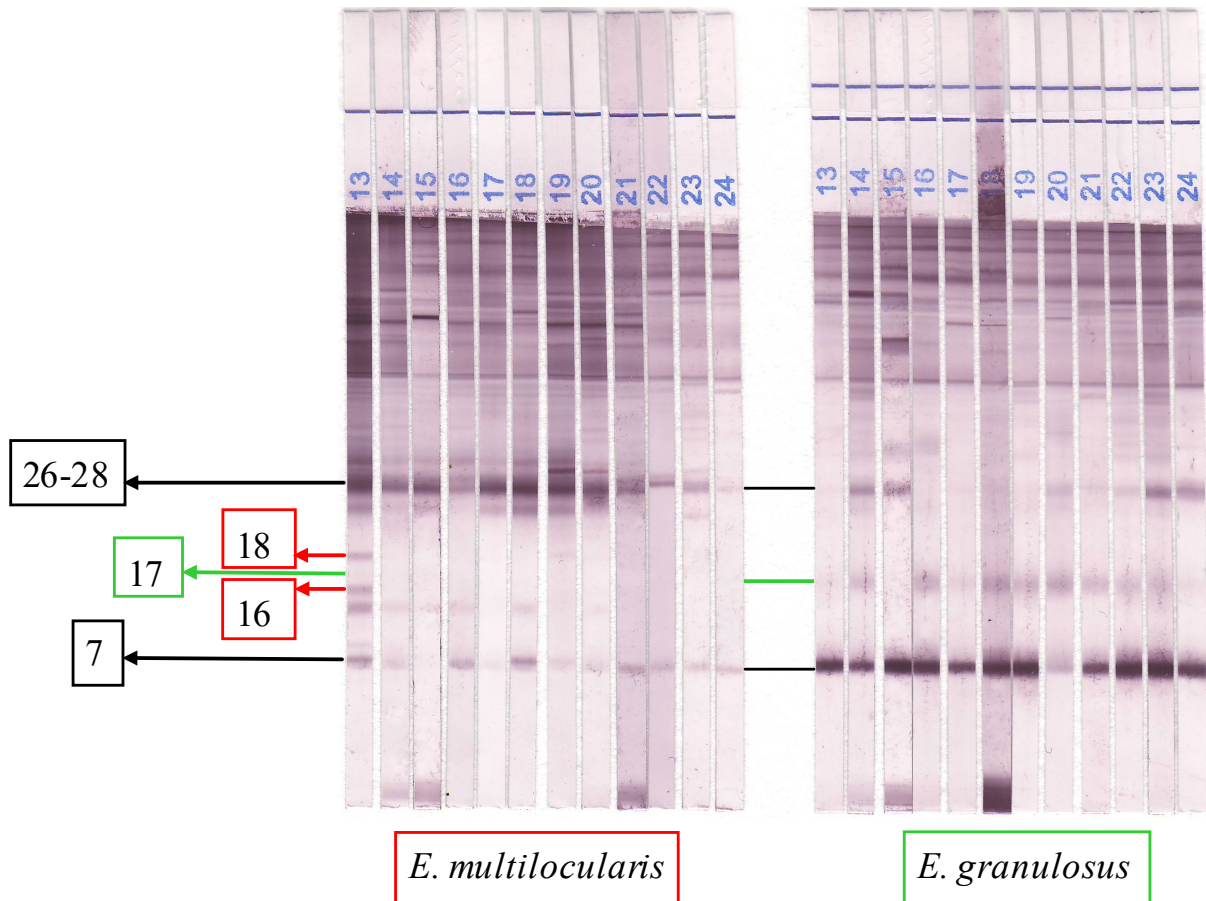


Fig. 2: Exemplos complementares de amostras positivas em imunoblot e proveniente de doentes infetados por *E. multilocularis* e *E. granulosus*. Os perfis são dados como exemplos. As tiras são marcadas com a letra "D" específica do parâmetro do lote "03023".

Estas amostras foram escolhidas especialmente para serem positivos fracos: todos os perfis de *E.m* são incompletos (com exceção da primeira tira n° 13).

É interessante observar a oposição dos perfis habitualmente encontrados para cada uma das espécies:

E. multilocularis: A banda 26-28 kDa aparece frequentemente sob a forma de uma banda dupla e é a mais intensa.

E. granulosus: inversamente, a banda mais intensa é a banda 7 kDa.

Mas esta regra não é absoluta (ex. A banda *E.m* n° 24, *E.g* n°20)

Para validar os resultados, compare sempre o perfil do imunoblot de cada amostra com o do controlo positivo R10. O aspeto das bandas é importante para a interpretação do teste.

Limitações de utilização

- O diagnóstico de uma doença infecciosa não pode ser estabelecido com base em um único resultado de teste.
- Os resultados serológicos devem ser interpretados de acordo com as informações disponíveis (por exemplo, epidemiologia, clínica, imagem, biologia, etc.) de forma a estabelecer um diagnóstico. Não devem ser utilizados como base para o diagnóstico apenas com base na sua positividade.

Desempenhos (ver referências bibliográficas)

Sensibilidade (Se)

Um estudo multicêntrico realizado em dois laboratórios especializados independentes e feito em 111 soros de doentes (50 hidatidose e 61 equinococose alveolares identificadas com precisão) deu os seguintes resultados:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: perfis obtidos					
	Neg	P1	P2	P3	P4	P5
Hidatidose (n=50)	1	12	22	0	1	14
echinococose alveolar (n=61)	2	0	0	41	7	11
Total (n=111)	3	12	22	41	8	25

Tabela 1: Sensibilidade do teste e perfis obtidos

Sensibilidade do teste: **Se = 97,3% relativamente ao género *Echinococcus***
Se = 98% relativamente à espécie *E. granulosus*
Se = 96,7% relativamente à espécie *E. multilocularis*

Diagnóstico de espécie: *E. granulosus* relativamente a *E. multilocularis*

A tabela 1 acima permite calcular um poder de discriminação entre as duas espécies de **67,6%** (perfis P1+ P2 + P3).

Especificidade - Reações cruzadas:

147 amostras séricas correspondentes a 147 doentes foram testadas com o estojo **ECHINOCOCCUS WB IgG** pelos dois laboratórios anteriores.

Foram incluídos soros de doentes atingidos por: neurocisticercose *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), doenças autoimunes: fator reumatoide FR (8), Anticorpos anti-nucleares ANA (12).

139 soros são negativos, demonstrando nesta população uma **especificidade de 94.6%**.

As 8 reações cruzadas foram observadas exclusivamente no âmbito de:

- cisticercose: presença de uma banda isolada a 7 kDa em 5/42 doentes.
- as doenças autoimunes: presença de uma fina banda isolada a 28 kDa em 1/8 dos doentes (FR+) e 2/12 doentes ANA+.

Nota: Fasciolose: Foi encontrada a presença de uma banda isolada muito larga (25-30 kDa) em 4/10 dos doentes testados mas esta não pode ser confundida com a banda específica 26-28.

Conclusão

A correlação entre a WB *Echinococcus* e o estado clínico é excelente.

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

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

Além disso, o WB permite um diagnóstico diferencial de amostras positivas com um perfil muito específico para *E. multilocularis* e *E. granulosus*.

Perfil *E. multilocularis* (perfil P3)

Sensibilidade = 67,2% [CI95 53,9-78,4%] Especificidade em relação a *E. granulosus* = 100% [91,1 - 100%].

Perfil *E. granulosus* (perfis P1 e P2)

Sensibilidade = 68% [CI95 53.2 - 80.1%] Especificidade comparada com *E. multilocularis* = 100% [92.6 - 100%]. *Nota:* O perfil P1 foi contudo encontrado em 5 casos (de 42) de cisticercose.

Os intervalos de confiança são calculados de acordo com o método de Wilson com correção de continuidade.

Reprodutibilidade

Foi testada a reprodutibilidade inter-série e inter-lote. Em ambos os casos, a correlação soro a soro relativamente às bandas específicas é excelente.

Interferências

Embora não tenha sido observada nenhuma reação cruzada especial com soro hemolizado, icterico ou lipídico, é recomendado interpretar os resultados da utilização deste tipo de amostras com cuidado.

Resolução de problemas

"As bandas estão pálidas, com pouco contraste": Certos soros com baixas concentrações de anticorpos podem dar este tipo de resultados.

"São visíveis áreas sombreadas, mais ou menos coloridas, ligeiramente difusas": A tira não foi totalmente mergulhada num dos reagentes e não incubou corretamente ao longo de todo o seu comprimento. Também podem ocorrer manchas nos locais onde a amostra foi depositada se o tabuleiro não tiver sido agitado após a distribuição.

"O ruído de fundo é significativo, tornando a leitura muito difícil": As lavagens foram insuficientes ou a última incubação foi demasiado longa. Assegurar boas técnicas de desempenho do teste, respeitar os tempos de lavagem e assegurar a boa qualidade da água. Reduzir o tempo da última incubação. Excepcionalmente, alguns soros poderão reagir de modo inespecífico. Neste caso, o resultado do immunoblot não pode ser utilizado.

Este ruído de fundo inespecífico pode envolver apenas parte da tira, invalidando a interpretação dos resultados apenas para aquela porção.

"Aparece um precipitado na solução durante o último passo da revelação": o substrato pode, efetivamente, precipitar parcialmente (flocos pretos) no tampão no final da revelação. Este fenómeno não altera a qualidade da revelação, que deve ser continuada normalmente. A última lavagem com água destilada elimina as eventuais partículas sólidas presentes.

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 Sero-Negativity 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.

NOTIFICAÇÃO DE ATUALIZAÇÃO - Por favor, leia atentamente

DATA DE LANÇAMENTO	VERSÃO	RESUMO DA MODIFICAÇÃO
30/11/2022	Vs16	Novo endereço
07/12/2022	Vs17	R6 sem NaN3. Tira identificada pela letra D. Possível utilização de reagentes de diferentes lotes.



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