

# LEISHMANIA



## Western Blot IgG

*In vitro* dijagnostički imunoblot test  
Poluautomatska / ručna tehnika

#LES-WB24G: 24 testova

#LES-WB12G: 12 testova

#LES-VB96G: 96 testova

## UPUTSTVO ZA UPOTREBU

Pronađite više informacija i uputstva prevedena na vaš jezik na našem  
sajtu [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)



# LEISHMANIA Western Blot IgG



## NAMENA

**LEISHMANIA Western Blot IgG** je kvalitativni test za jednokratnu upotrebu serološke IgG dijagnoze imunoblot testom lišmanioze namenjen za potvrdno testiranje pozitivnog ili dvosmislenog rezultata dobijenog klasičnim skrining testovima.

## PRINCIP TESTA

### Western Blot tehnika

Antigeni *Leishmania infantum*, jednom razdvojeni elektroforezom, vezani su elektroblotiranjem na površinu nitrocelulozne membrane (nazvane transfer) isečene na 24 trake numerisane od 1 do 24.

### Sprovođenje testa

Svaki uzorak koji se testira je odvojeno inkubiran sa trakom. Specifična antitela potencijalno prisutna u uzorku selektivno se vezuju za antigene. Alkalna fosfataza-anti humani IgG konjugat se zatim vezuje za vezana antitela. Konačno, imunokompleksi reaguju sa supstratom. Antigeni prepoznati specifičnim antitelima tipa IgG prisutnim u uzorcima otkrivaju se kao ljubičaste poprečne trake.

## ISPORUČENI REAGENSI

Podrazumevano: paket od 24 testa (#LES-VB24G)

*Kurziv:* paket od 12 testova (#LES-WB12G) – **Podebljano:** paket od **96 testova** (#LES-WB96G)

ID	Količina	Opis	Sastav
R1	1	Fascikla (i) od 24 ( <b>12, 4x24</b> ) trake: precut + obojeni standardi. (Svaka fascikla i svaki prenos je identifikovan jedinstvenim serijskim brojem)	Senzibilizovana nitroceluloza. Obojena molekulska težina (kDa): Plava: 250, Plava: 150, Plava: 100, Roze: 75, Plava: 50, Zelena: 37, roze: 25, plava: 20, plava: 15, žuta: 10.
R2	1	Bočica od 30 ( <b>30, 125</b> ) mL SAMPLE BUFFER (Spreman za upotrebu - roze rastvor).	Pufer + površinski aktivna supstanca.
R3	1	Bočica (e) od 30 ( <b>30, 2x60</b> ) mL ANTI IgG CONJUGATE (Spreman za upotrebu – plav rastvor).	Pufer + anti-humani IgG poliklonski kozji serumi konjugirani sa alkalnom fosfatazom + NaN <sub>3</sub> (<0.1%) + stabilizatori.
R5	1	Bočica od 30 ( <b>30, 125</b> ) mL SUPSTRATA (Spreman za upotrebu - neprozirna smeđa bočica).	Pufer + NBT + BCIP + stabilizatori.
R6	1	Bočica od 60 ( <b>60, 250</b> ) mL koncentrata za pranje 10X BUFFER ( <u>Da se razblaži 10 puta</u> u destilovanoj vodi - bezbojan rastvor).	Pufer + surfaktant + NaN <sub>3</sub> (<0,1%).
R10	1	Epruveta od 200 ( <b>200, 2x200</b> ) µL POZITIVNOG KONTROLNOG SERUMA (Spreman za upotrebu - crvena kapa).	Pufer + bazen ljudskih seruma pozitivnih u <i>Leishmania</i> serologija + NaN <sub>3</sub> (<0,1%) + stabilizatori.

**R1:** Slovo pre svakog broja trake je specifično za parametar.

**R2, R3, R5 i R6** su zajednički za sve complete i imaju jedinstven broj lota u zavisnosti samo od datuma njihove proizvodnje. **Preporučuje se da se izvrši multiparametarsko testiranje (vidi LDBIO imunoblot opseg) kako bi se ograničio broj otvorenih bočica i osigurala bolja kontrola kvaliteta.**

**R10** je kalibrisan u imunoblotu prema referentnom lotu i posvećen je samo ovoj tehnici.

R3, R10 (NaN<sub>3</sub>): EUH 032 - Kontakt sa kiselinama oslobađa veoma otrovan gas.

EUH 210 Sigurnosno-tehnički list dostupan na zahtev kao i na našoj web stranici [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)

#### DODATNI MATERIJAL POTREBAN, ALI NIJE OBEZBEĐEN

- Jedna višekanalna polipropilenska inkubaciona posuda za mini-blots (#WBPP-08 ili ekvivalent).
- Jedna platforma za mešanje imunoblota, jedan vakuumski sistem za tečnosti (kade #WBPP-08 koje isporučujemo mogu se isprazniti jednostavnim okretanjem).
- Epruvete i materijal za izvlačenje uzoraka, graduirani cilindri, prilagođeni kontejneri. Automatske pipete, mikropipete i nastavci za jednokratnu upotrebu (zapremine 25 µL, 1,2 mL i 2 mL).
- Destilovana ili dejonizovana voda. Upijajući papir (npr. Whatman filter papir), prozirna lepljiva traka.
- Rukavice, pinceta za rukovanje trake, sekač ili skalpel, ravan transparentan lenjir.

Napomena: Naši reagensi se mogu koristiti u automatizovanom imunoblot procesoru. Treba voditi računa o mogućim hemijskim kontaminacijama naših reagenasa ako se procesor deli sa reagensima drugog proizvođača (poznati primer: kontaminacija od strane TWEEN 20) i bakterijske kontaminacije. Rezervne bočice za procesor. Nakon obrade, ne stavljajte preostale korišćene reagense nazad u originalne bočice.

#### SKLADIŠTENJE I STABILNOST

Čuvati između 2 i 8 °C. Reagensi iz kompleta su stabilni do isteka roka trajanja navedenog na spoljnoj kutiji i etiketama bočica. Nemojte koristiti kontaminirane ili zamućene reagense. Pufer za pranje razblažen na 1/10 je stabilan 2 meseca na +2 do +8 °C i nedelju dana na sobnoj temperaturi.

## MERE PREDOSTROŽNOSTI ZA UPOTREBU

### Bezbednost

- Samo za *in vitro* upotrebu. Samo za profesionalnu upotrebu. Samo za tehnički obučeno osoblje. Rukovati u skladu sa dobrim laboratorijskim praksama i razmotriti bilo koji reagens i bilo koji uzorak kao potencijalno toksičan i / ili infektivni.
- Nosite laboratorijski mantil, rukavice i naočare; Nemojte piti, jesti ili pušiti u laboratoriji. Ne pipetirajte ustima.
- Pozitivna kontrola je serum ljudskog porekla koji je inaktiviran za HIV 1 i 2, viruse hepatitisa B i hepatitisa C. Međutim, mora se rukovati kao potencijalno infektivnim proizvodom.
- Supstrat sadrži mešavinu NBT i BCIP, toksičan u kontaktu (koža i sluzokože) i udisanje.
- Reagensi sadrže natrijum azid koji može da formira eksplozivne metalne soli sa olovom i bakrom. Isperite svako izlivanje vodom.
- Odložite otpad (uzorci, nastavci, epruvete, tečnost za pranje, korišćeni reagens ...) u skladu sa dobrim praksama koje se koriste u industriji i važećim propisima u zemlji.
- Svaki ozbiljan incident mora biti predmet izjave proizvođaču i nadležnom organu.

### Predostrožnosti

- Pročitajte i interpretirajte rezultate pod direktnim belim svetlom.
- Poželjno je koristiti sve reagense iz iste serije. Ako se koriste različite serije, obezbedite sledljivost.
- Koristite trake u numeričkom redosledu. Ne mešajte trake iz različitih serijskih brojeva; Koristite transfere uzastopno. Uspostavite poseban plan distribucije pre početka testa.
- Ne dodirujte trake prstima; koristite pincetu.
- Reagensi se moraju dobro izmešati pre upotrebe, posebno koncentrisani pufer za ispiranje.
- Zatvorite bočice nakon upotrebe; Nemojte koristiti ako je supstanca slučajno uvedena u reagense. Nemojte koristiti reagens iz bočice koja predstavlja znake curenja. Nemojte koristiti zamućen ili istaložen rastvor.
- Koristite samo nastavke za pipete za jednokratnu upotrebu. Izbegavajte bilo kakvu međukanalnu kontaminaciju. Pazite na formiranje pene ili mehurića u nastavcima pipeta (bakterijska kontaminacija bočica reagensa).
- Posude za inkubaciju čistite samo destilovanom vodom (nikada ne koristite deterdžent ili izbeljivač).
- Izostavljanje uzorka ili distribucija neadekvatnog volumena može učiniti rezultat testa negativnim ili pozitivnim, bez obzira na njegov stvarni status.

### PRIKUPLJANJE UZORAKA

Aseptički prikupiti uzorke u suvim epruvetama. Potrebno je najmanje 25 µL seruma.

Držite uzorke na 2-8 ° C dok se ne obrade. Ako je potrebno čuvati ih duže od nedelju dana, zamrznite uzorke na -20 ± 5 °C. Nemojte koristiti kontaminirani uzorak. Izbegavajte zamrzavanje i odmrzavanje uzoraka više puta.

Iako nije primećena posebna unakrsna reakcija sa hemolizovanim, ikteričnim ili lipidnim serumima, preporučuje se pažljivo tumačenje rezultata upotrebe takvih uzoraka.

### PRIPREMA REAGENSA

**Pufer za ispiranje:** Za 4 testa, u čistoj boci, razblažite 10 ml koncentrata za pranje 10X (R6) u 90 ml destilovane ili dejonizovane vode. Pazite da dobro izmešate razblaženi pufer.

## POSTUPAK TESTIRANJA

*Nota Bene:* Preporučuje se da se izvrši multiparametarsko testiranje (vidi LDBIO imunoblot opseg) kako bi se ograničio broj otvorenih bočica i osigurala bolja kontrola kvaliteta.

1. Pripremite plan distribucije za uzorke i C + pozitivnu kontrolu (**R10**).

Samo korišćenjem ove kontrole test može biti tehnički potvrđen i identifikacija napravljena, za dati serijski broj, specifičnih razvijenih traka. C + traka se ne može koristiti za tumačenje rezultata traka iz traka boje drugog serijskog broja.

2. Odrežite potreban broj traka (R1) pomoću skalpela i čistog i suvog ravnog prozirnog lenjira, zadržavajući plavu liniju pozicioniranja na trakama; držite trake čvrsto na mestu lenjirom i izrežite ih sa strane napreznja (brojevi su vidljivi kroz lenjir).
3. Distribuirati 1.2 ml uzorka pufera (R2) u svakom kanalu u skladu sa utvrđenim planom.
4. Depozit, u svom numeričkom redosledu, numerisane trake u kanalima: Neke trake se rehidriraju na površini pufera za oko 2 minuta, sa brojem vidljivim na vrhu, onda lagano protresite ležište da ih potpuno uronite u pufer.
5. Distribuirajte uzorke i pozitivne kontrole: prema planu distribucije, po stopi od 25 µL po kanalu. Lagano protresite poslužavnik nakon svakog doziranja. Postavite poslužavnik na platformu za mešanje. **Inkubirati 90 minuta** ± 5 minuta na 20-26 °C.
6. Korak ispiranja: Ispraznite sadržaj kanala Pasterovom pipetom ili okretanjem posude za inkubaciju. Raspršite 2 do 3 ml razblaženog pufera za ispiranje u svakom kanalu. Inkubirajte na platformi za mešanje 3 minuta. Ponovite 2 puta, a zatim ispraznite sadržaj kanala. Uverite se da se trake ne okreću tokom ovih koraka.
7. Nanesite 1.2 mL anti IgG konjugata (R3) u svaki kanal. Postavite poslužavnik na platformu za mešanje. **Inkubirati 60 minuta** ± 5 minuta na 20-26 °C.
8. Korak ispiranja: ponovite korak 6.
9. Distribuirajte 1.2 ml NBT / BCIP supstrata (R5) u svaki od kanala. Postavite na platformu za mešanje i zaštitite od direktne svetlosti. **Inkubirati 60 minuta** ± 5 minuta na 20-26 °C.

Bez obzira na parametar, pratite razvoj boje. Razvoj se može zaustaviti ako boja pozadine trake potamni do tačke u kojoj je teško čitati (kvalitet koraka ispiranja ima fundamentalni uticaj na obojenost pozadine). Imajte na umu da će trake olakšati dok se suše.

10. Zaustavite reakciju aspiracijom supstrata sa Pasterovom pipetom ili okretanjem kade za inkubaciju i doziranjem 2 ml destilovane ili dejonizovane vode u kanalima. Ponovite ovaj poslednji korak ispiranja još jednom.
11. Sušenje traka: Dok su kanali još uvek ispunjeni vodom, pincetom uzmite trake za numerisani kraj i položite ih, sa vidljivim brojem, na upijajući papir Whatman. Ostavite da se osuši na vazduhu. Boja traka će prirodno osvetliti tokom sušenja. Tumačenje se mora izvršiti tek nakon završetka sušenja.
12. Skladištenje: Prenesite trake na list papira, koji će se koristiti za njihovo arhiviranje. Poravnajte plave linije pozicioniranja. Držeći ih na mestu ravnim lenjirom, vrh traka zalepite prozirnou lepljivom trakom.

Za dobro tumačenje, trake moraju biti raspoređene u odnosu na njihov numerički redosled, razmaknute na maksimalno nekoliko milimetara. Nepouzđano je upoređivati trake koje su razmaknute daleko (npr. br.2 sa br.15). **Opasno je** (lažni rezultati) upoređivati trake iz različitih kompleta (trake sa različitim serijskim brojevima).

## KONTROLA KVALITETA I TUMAČENJE

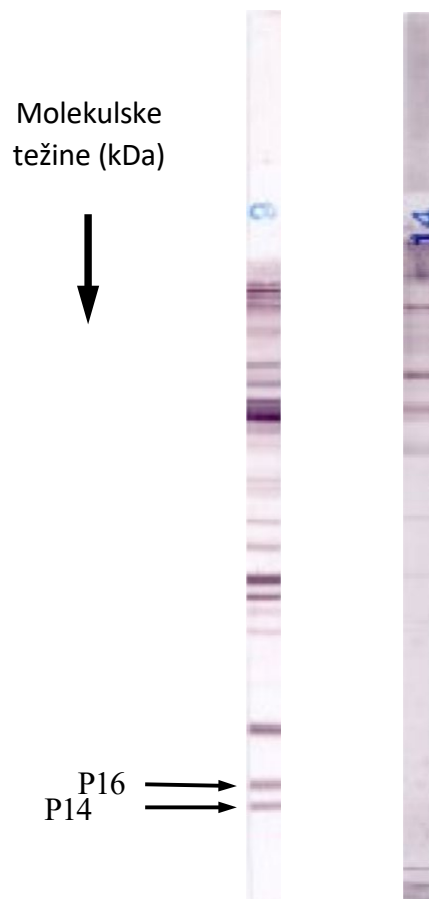
Kontrola seruma (R10) koja se isporučuje sa kompletom mora biti sistematski uključena u bilo koju seriju imunoblota. On pokazuje tipičan profil i omogućava tehničku validaciju dobrog sprovođenja testa (trake boje moraju da se pojave vrlo jasno na traci) i da precizno kalibrira položaj i aspekt specifičnih traka boje kako bi se omogućilo tumačenje rezultata traka iz istog lota (isti serijski broj).

*Nota Bene:* Pozitivna kontrola (R10) profil može da varira u zavisnosti od broja lota reagensa koji se koriste. Odgovarajuće slike su dostupne na našem sajtu [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com) kao primer.

### Opis traka

Pozitivan uzorak može predstaviti brojne trake boje koje se nalaze između 8 i 200 kilodaltona (kDa). Neki su specifični za lišmaniozu. Međutim, poteškoće u njihovom lociranju u sredini drugih traka bez određene specifičnosti je nedostatak njihovog korišćenja.

Potražite prisustvo 14 i 16 kDa opsega za svaki od testiranih uzoraka pomoću gore opisanih alata za kalibraciju. Ove trake boja, koje se nalaze na dnu trake i generalno dobro izolovane, generalno su vrlo lake za tumačenje.



### Sl. 1: Primeri pozitivnih i negativnih rezultata

Profili su dati kao primeri. Trake su označene slovom "C" specifičnim za parametar iz serije "02007".

### Tumačenje

Prisustvo na traci antigenskog pojasa od 14 kDa i / ili 16 kDa omogućava da se test tumači kao pozitivan i da se zaključi da su *anti-Leishmania IgG* antitela prisutna u testiranom uzorku.

Da biste potvrdili rezultate, uvek uporedite profil imunoblota svakog uzorka sa profilom pozitivne kontrole R10. Aspekt traka je važan prilikom tumačenja testa.

## OGRANIČENJE UPOTREBE

- Dijagnoza zarazne bolesti ne može se utvrditi na osnovu jednog rezultata testa.
- Serološki rezultati moraju se tumačiti u skladu sa dostupnim informacijama (npr. Epidemiologija, klinička, snimanje, biologija ...) kako bi se postavila dijagnoza. Ne treba ih koristiti za postavljanje dijagnoze samo na osnovu njihove pozitivnosti.

Negativan serološki rezultat ne isključuje dijagnozu visceralne lišmanioze, posebno kod pacijenata sa potiskom imuniteta. Svaka sumnja na lišmaniozu mora automatski rezultirati parazitološkom pretragom protozoa.

**UČINAK** (vidi literaturu reference str.8)

**LEISHMANIA WB IgG** test bio je predmet komparativne studije sa IFA i ELISA tehnikama u nezavisnoj laboratoriji.

Osetljivost (Se)

	IFA	ELISA	WB
POZITIVAN	41	40	51
NEGATIVNO	10	11	0

**Tabela 1:** 51 seruma od subjekata koji pate od progresivne visceralne lišmanioze testirani su tehnikama 3. Za razliku od WB, ELISA i IFA su pokazali lažno negativne rezultate, posebno kod imunokompromitovanih pacijenata (HIV)

	IFA	ELISA	WB
POZITIVAN	0	0	15
NEGATIVNO	20	20	5

**Tabela 2:** 20 seruma od zdravih pacijenata u endemskom području i predstavljanje pozitivan test osetljivosti kože su testirani paralelno sa tri tehnike: osetljivost IFA i ELISA je nedovoljna da otkrije veoma niske nivoe antitela.

Specifičnost (Sp)

	IFA	ELISA	WB
POZITIVAN	0	0	0
NEGATIVNO	30	30	30

**Tabela 3:** 30 seruma zdravih živih odraslih pacijenata u ne-endemskom području testirano je paralelno sa imunoblotom, ELISA i IFA u nezavisnoj laboratoriji: specifičnost tri tehnike bila je 100%.

*Napomena:* Lažno pozitivne reakcije se često nalaze, bez obzira na tehniku, kod pacijenata koji pate od tripanosomijaze (*Trypanosoma cruzi*).

## Zaključak

WB ima odličnu osetljivost koja mu omogućava da efikasno otkrije pacijente sa visceralnom lišmaniozom čak i u kontekstu imunodepresije.

Omogućava otkrivanje asimptomatskih nosilaca, a ima odličnu specifičnost, što pokazuje odsustvo pozitivnih seruma kod neendemskih pacijenata.

**Se = 100% [IC95 91.3 - 100%]**

**Sp = 100% [IC95 79.9 - 100%]**

Intervali pouzdanosti se izračunavaju prema Wilsonovoj metodi sa korekcijom kontinuiteta.

### Ponovljivost

Testirana je ponovljivost između serija i između partija. U oba slučaja, korelacija između seruma u odnosu na određene trake je odlična.

### Smetnje

Iako nije primećena posebna unakrsna reakcija sa hemolizovanim, ikteričnim ili lipidnim serumima, preporučuje se pažljivo tumačenje rezultata upotrebe takvih uzoraka.

## REŠAVANJE PROBLEMA

**"Trake su blede sa malim kontrastom"**: Određeni serumi sa niskim koncentracijama antitela mogu dati takve rezultate.

**"Osenčena područja mogu se videti, više ili manje obojena, blago difuzna"**: Traka nije bila potpuno potopljena u jedan od reagenasa i nije pravilno inkubirala duž cele dužine. Mrlje boje mogu biti prisutne i tamo gde je uzorak deponovan ako poslužavnik nije uzdrman nakon doziranja.

**"Pozadinski šum je značajan, što čitanje veoma otežava"**: Ispiranje je bilo nedovoljno ili je poslednja inkubacija bila preduga. Obezbedite dobre tehnike izvođenja testa, poštujujte vreme ispiranja i obezbedite kvalitet vode. Smanjite vreme poslednje inkubacije. Izuzetno, određeni serumi mogu reagovati na nespecifičan način. Zatim, rezultat imunoblota se ne može koristiti.

Ovaj nespecifičan pozadinski šum može uključivati samo deo trake, čineći rezultate neinterpretabilnim samo za taj deo.

**"Talog se pojavljuje u rastvoru tokom poslednjeg koraka razvoja"**: supstrat može u stvari delimično taložiti (crne pahuljice) u puferu na kraju razvoja. Ovaj fenomen ne menja kvalitet razvoja koji se mora normalno nastaviti. Poslednje ispiranje destilovanom vodom eliminiše moguće prisutne čvrste čestice.

## BIBLIOGRAFIJA

- Aoun O, Mary C, Roqueplo C, Marié JL, Terrier O, Levieuge A, et Davoust B. 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, Bolla C, Concialdi E, Trisciuglio A, Romano A, et Ferroglio E. 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 GF, De Sousa MR, Nogueira Demarqui F, et Rabello A. 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, Cañavate C, Faraut-Gambarelli F, et Marty P. 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, Centaro E, Mignone W, et Trisciuglio A. 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, Ammari L, Kaouech E, Belhadj S, Anane S, Kilani B, et Chaker E. 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, Dedet JP, Marty P, Faraut F, Buffet P, Gangneux JP, Ravel J, Bastien P, et Working Group for the Notification of Human Leishmanioses in France. 2013. « Surveillance of Leishmaniasis in France, 1999 to 2012 ». *Euro Surveillace: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin* 18 (29): 20534.
- Marty P, Lelievre A, Quaranta JF, Rahal A, Gari-Toussaint M, et Le Fichoux Y. 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, Lelièvre A, Quaranta JF, Suffia I, Eulalio M, Gari-Toussaint M, Le Fichoux Y, et Kubar J. 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, Lamouroux D, Dunan S, et Quilici M. 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 C, Despierres L, Del Giudice P, Delaunay P, Michel G, Ferrua B, et Marty P. 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 P. 2014. « Epidemiology of Visceral Leishmaniasis ». *Clinical Epidemiology*, mai, 147. doi:10.2147/CLEP.S44267.
- Saghrouni F, Khammari I, Kaabia N, Bouguila J, Ben Abdeljelil J, Fathallah A, Amri F, et Ben Saïd M. 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 L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G, 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, Carrillo E, López-Vélez R, Lynen L, et Moreno J. 2014. « Leishmaniasis in Immunosuppressed Individuals ». *Clinical Microbiology and Infection* 20 (4): 286-99. doi:10.1111/1469-0691.12556.

**OBAVEŠTENJE AŽURIRANJA – Molimo vas da pažljivo pročitate**

DATUM IZLASKA	VERZIJA	REZIME MODIFIKACIJE
02/08/2021	Vs 15	Uklanjanje sigurnosnog upozorenja R5 - Kontakt adresa e-pošte – NaN <sub>3</sub> EUH 032.
24/10/2022	Vs16	R6 bez NaN <sub>3</sub> . Traka identifikovana slovom C. Moguća upotreba reagensa iz različitih serija.
30/11/2022	Vs17	Nova adresa



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](http://www.ldbiodiagnostics.com) – info@ldbiodiag.com