

ECHINOCOCCUS

CE



Western Blot IgG

In vitro diagnostický test Immunoblot
Poloautomatizovaná / manuálna technika

#ECH-WB24G: 24 testov

#ECH-WB12G: 12 testov

#ECH-WB96G: 96 testov

NÁVOD NA POUŽITIE

Viac informácií a návod na použitie vo vašom jazyku nájdete na našej webovej stránke
www.ldbiodiagnostics.com

DOPORUČENÉ POUŽITIE

ECHINOCOCCUS Western Blot (WB) IgG je kvalitatívny test na jednorazové použitie na diagnostiku sérologického IgG, pomocou imunoblotového testu na alveolárnu echinokokózu a hydatidózu, určený na potvrdzujúce testovanie pozitívnych alebo nejednoznačných výsledkov získaných klasickými skriningovými testami.

PRINCÍP TESTU

Technika Western Blot

Antigény lariiev *Echinococcus multilocularis* sa po oddelení elektroforézou naviažu elektroblotovaním na povrch nitrocelulózovej membrány (nazývanej transfer) narezanej na 24 pásov očíslovaných od 1 do 24.

Vykonanie testu

Každá testovaná vzorka sa oddelene inkubuje s prúžkom. Špecifické protilátky potenciálne prítomné vo vzorke sa selektívne viažu na antigény. Konjugát alkalická fosfatáza-anti-humánny IgG sa potom viaže na naviazané protilátky. Nakoniec imunokomplexy reagujú so substrátom. Antigény, rozpoznávané špecifickými protilátkami typu IgG prítomnými vo vzorkách, sú odhalené ako fialové priečne pruhy.

REAGENCIE DODÁVANÉ SO SÚPRAVOU

Predvolené: balenie 24 testov (#ECH-WB24G)

Italic : balenie 12 testov (#ECH-WB12G) – **Bold** : balenie 96 testov (#ECH-WB96G).

ID	ks	Popis	Zloženie
R1	1	Priečinok (y) 24 (12, 4x24) STRIPS + prefarbené štandardy (každý priečinok a každý prenos je identifikovaný jedinečným sériovým číslom)	Senzitizovaná nitrocelulóza. Farebná molekulová hmotnosť (kDa): Modrá: 250, Modrá: 150, Modrá: 100, Ružová: 75, Modrá: 50, Zelená: 37, Ružová: 25, Modrá: 20, Modrá: 15, Žltá: 10.
R2	1	Injekčná liekovka s 30 (30, 125) ml VZORIEK VZORKY (pripravený na použitie - ružový roztok).	Pufr + povrchovo aktívna látka.
R3	1	Injekčná liekovka (liekovky) 30 (30, 2x60) ml ANTI IgG CONJUGATE (roztok pripravený na použitie - modrý roztok).	Pufrovacie polyklonálne kozie sérum proti ľudskému IgG konjugované s alkalickou fosfatázou NaN ₃ (<0.1%) + stabilizátory.
R5	1	Injekčná liekovka s 30 (30, 125) ml SUBSTRATE (pripravená na použitie - nepriehľadná hnedá liekovka).	Tlmivý roztok + NBT + BCIP + stabilizátory.
R6	1	Injekčná liekovka 60 (60, 250) ml WASH CONCENTRATE 10X BUFFER (zriedi sa 10-krát v destilovanej vode - bezfarebný roztok).	Pufr + povrchovo aktívna látka.
R10	1	Skúmavka 200 (200, 2x200) µl POZITÍVNEHO KONTROLNÉHO SERUMU (pripravený na použitie - červený uzáver).	Zásobný roztok ľudského séra pozitívneho v <i>E. multilocularis</i> serológia + NaN ₃ (<0.1%) + stabilizátory.

R1: Písmeno pred každým číslom pásu je špecifické pre parameter.

R2, R3, R5 and R6 sú spoločné pre všetky zostavy a majú jedinečné číslo šarže v závislosti od dátumu ich výroby. **Odporúča sa vykonať multiparametrové testovanie (pozri rozsah imunoblotov LDBIO), aby sa obmedzil počet otvorených injekčných liekoviek a aby sa zabezpečila lepšia kontrola kvality.**

R10 je kalibrovaný v imunoblote podľa referenčnej šarže a je určený iba pre túto techniku.

R3, R10 (NaN3): EUH 032- Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn.

EUH 210 Na požiadanie možno poskytnúť kartu bezpečnostných údajov a na našom webe www.ldbiodiagnostics.com.

POTREBNÝ DODATOČNÝ MATERIÁL - NIE JE SÚČASŤOU BALENIA

- Viackanálové polypropylénové inkubačné podnosy pre mini-bloty (# WBPP- 08 or equivalent).
- Hojdacia plošina pre imunoblotty, vákuový systém pre kvapaliny (the # WBPP- 08 skúmavky, ktoré dodávame, môžu byť vyprázdnené jednoduchým otočením).
- Skúmavky a materiál na ťahanie vzoriek odmerných valcov, prispôsobených kontajnerov. Automatické pipety, mikropipety a jednorazové špičky (objem 25 µl, 1.2 ml and 2 ml).
- Destilovaná alebo deionizovaná voda. Absorpčný papier (e.g., Whatman filter paper), transparentná lepiaca páska.
- Rukavice, pinzeta na manipuláciu s prúžkami, rezačkou alebo skalpelom, ploché priehľadné pravítko.

Poznámka : Naše reagenty môžu byť použité v automatizovanom imunoblotovom procesore. **Ak je procesor zdieľaný s činidlami od iného výrobcu** (známy príklad: kontaminácia TWEEN 20) **a bakteriálne kontaminácie**, je potrebné venovať pozornosť možným chemickým kontamináciám našich činidiel. Rezervovať skúmavky pre procesor. Po spracovaní nedávajte zostávajúce použité reagenty späť do pôvodných injekčných liekoviek.

SKLADOVANIE A STABILITA

Skladujte v rozmedzí 2 až 8°C. Reagenty zo súpravy sú stabilné až do dátumu expirácie uvedeného na vonkajšom obale a štítkoch injekčnej liekovky. Nepoužívajte kontaminované alebo zakalené činidlo. Premývací pufer zriedený na 1/10 je stabilný 2 mesiace pri 2 až 8°C alebo jeden týždeň pri izbovej teplote.

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Bezpečnosť

- Len na použitie *in vitro*. Len na profesionálne použitie. Iba pre technicky vyškolený personál. Manipulujte v súlade so správnou laboratórnou praxou a akékoľvek činidlo a akúkoľvek vzorku považujte za potenciálne toxické a / alebo infekčné
- Používajte laboratórny plášť, rukavice a okuliare; v laboratóriu nepite, nejedzte ani nefajčite.
- Pozitívnu kontrolou je sérum ľudského pôvodu, ktoré bolo inaktivované na vírusy HIV 1 a 2, hepatitídu B a hepatitídu C. So substrátom sa však musí zaobchádzať ako s potenciálne infekčným produktom
- Substrát obsahuje zmes NBT a BCIP, jedovatý pri kontakte (pokožka a sliznice) a pri vdýchnutí
- Činidlá obsahujú azid sodný, ktorý môže tvoriť výbušné kovové soli s olovom a meďou. Rozliaty materiál opláchnite vodou.
- Zlikvidujte odpad (vzorky, špičky, skúmavky, premývaciu kvapalinu, použité činidlo ...) v súlade s osvedčenými postupmi používanými v priemysle a platnými predpismi v krajine.
- Akákoľvek vážna nehoda musí byť predmetom vyhlásenia pre výrobcu a príslušného orgánu.

Prevenčia

- Výsledky čítajte a interpretujte pod priamym bielym svetlom.
- Je vhodnejšie použiť všetky činidlá z tej istej šarže. Ak sa používajú rôzne šarže, zabezpečte sledovateľnosť.
- Prúžky používajte v číselnom poradí. Nemiešajte prúžky z rôznych sériových čísel; použiť prevody po sebe. Pred začatím testu vytvorte špecifický distribučný plán
- Nedotýkajte sa prúžkov prstami;
- Pred použitím sa musia reagenty dobre premiešať, najmä koncentrovaný premývací tlmivý roztok
- Uzatvoriť injekčné liekovky po použití; nepoužívajte, ak bola látka náhodne vložená do činidiel. Nepoužívajte reagentiu z injekčnej liekovky, ktorá vykazuje známky úniku. Nepoužívajte zakalený alebo vyzrážaný roztok
- Používajte iba jednorazové špičky pipiet. Vyhnite sa akejkoľvek medzikanálovej kontaminácii. Dávajte pozor na tvorbu peny alebo bublín v špičkách pipiet (bakteriálna kontaminácia reagenčných liekoviek)
- Inkubačné platničky čistite iba destilovanou vodou (nikdy nepoužívajte prací prostriedok alebo bielidlo)
- Vynechanie vzorky alebo distribúcia neprímeraného objemu - výsledok testu záporný alebo pozitívny, bez ohľadu na jeho aktuálny stav.

ODBER VZORIEK

Asepticky odoberajte vzorky do suchých skúmaviek. Vyžaduje sa minimálne 25 µl séra.

Vzorky uchovávajúte pri 2-8°C až do spracovania. Ak sa musia skladovať dlhšie ako týždeň, vzorky zmrazte na -20 ± 5 ° C. Nepoužívajte kontaminovanú vzorku. Vzorky zamedzte opakovanému zmrazeniu a rozmrazeniu.*

Napriek tomu, že pri hemolyzovaných, ikterických alebo lipidových sérach nebola pozorovaná žiadna špecifická skrížená reakcia, odporúča sa starostlivo interpretovať výsledky z použitia takýchto vzoriek.

PRÍPRAVA ČINIDIEL

Prachový pufor : Pre 4 testy v čistej fľaši zriedte 10 ml premývacieho koncentráту 10X (R6) v 90 ml destilovanej alebo deionizovanej vody. Buďte opatrní pri miešaní zriedeného tlmivého roztoku.

SKÚŠOBNÝ POSTUP

Nota Bene: Odporúča sa vykonať multiparametrické testovanie (pozri rozsah imunoblotov LDBIO), aby sa obmedzil počet otvorených injekčných liekoviek a aby sa zabezpečila lepšia kontrola kvality.

1. Pripravte distribučný plán pre vzorky a pozitívnu kontrolu C (R10).

Skúška môže byť technicky overená a identifikovaná len pre dané sériové číslo špecifických vyvinutých pásiem. AC pásik nie je možné použiť na interpretáciu výsledkov prúžkov z blotu iného sériového čísla.

2. Získajte požadovaný počet prúžkov (R1) skalpelom a čistým a suchým plochým priehľadným pravítkom, ohranjanie modre črte za pozicioniranje na trakovih : pásky držte pásy pevne na mieste s pravítkom a odrežte ich na strane kmeňa (čísla sú viditeľné cez pravítko).

3. Rozdeľte 1,2 ml vzorkového pufru (R2) v každom kanáli podľa stanoveného plánu.

4. Vkladajte očíslované prúžky v kanáloch v ich číselnom poradí: Nechajte prúžky rehydratovať na povrchu po dobu približne 1 minút, s číslom viditeľným na vrchu, POTOM jemne pretrepte zásobník, aby sa úplne ponorili do pufru.

5. Rozdeľte vzorky a pozitívnu kontrolu (-y): podľa distribučného plánu rýchlosťou 25 µl na kanál. Zásobník po každom vydaní jemne pretrepte. Podnos umiestnite na hojdačku.

Inkubujte 90 min ± 5 min pri 20-26 °C.

6. Krok premývania: Vyprázdňte obsah kanálov Pasteurovou pipetou alebo otočením inkubačnej misky. Do každého kanála sa napipetujú 2 až 3 ml zriedeného premývacieho pufru. Inkubujte 3 minúty na húpavej plošine. Opakujte 2 krát a potom vyprázdňte obsah kanálov. Uistite sa, že sa prúžky počas týchto krokov neotáčajú.

7. Do každého kanála sa pridá 1,2 ml konjugátu anti IgG (R3). Umiestnite podnos na hojdačku. **Inkubujte** 60 min ± 5 min pri 20-26 °C.

8. Krok premývania: opakujte krok 6.

9. Rozdeľte 1,2 ml substrátu NBT / BCIP (R5) do každého z kanálov. Umiestnite na hojdačku a chráňte pred priamym svetlom. **Inkubujte** 60 min ± 5 min pri 20-26 °C.

Bez ohľadu na parameter sledujte vývoj farby. Vývoj môže byť zastavený, ak farba pozadia pásu stmavne do miesta, kde je čítanie obtiažne (kvalita krokov prania má zásadný vplyv na sfarbenie pozadia). Všimnite si, že prúžky sa zosvetlia, keď sú suché.

10. Zastavte reakciu odsatím substrátu pomocou Pasteurovej pipety alebo otočením inkubačnej vane a vydávaním 2 ml destilovanej vody do kanálov. Tento posledný premývací krok zopakujte ešte raz.

11. Odstránenie pásov: S kanálmi, ktoré sú ešte naplnené vodou, odoberte prúžky pomocou očíslovaného konca pomocou pinziet a uložte ich s viditeľným číslom na absorpčný papier Whatman. Nechajte vyschnúť na vzduchu. Farba pásov sa prirodzene zosvetlí pri sušení. Interpretácia sa musí vykonať len po ukončení sušenia.

12. Skladovanie: Prúžky preneste na list papiera, ktorý sa použije na ich archiváciu. Zarovnajte polohovacie čiary. Uchovávajte ich na mieste s plochým pravítkom, prilepte vrchnú časť pásov transparentnou lepiacou páskou.

Pre dobrú interpretáciu musia byť prúžky usporiadané v rade v ich číselnom poradí, rozmiestnené maximálne od seba niekoľko milimetrov. Je nespoľahlivé porovnávať prúžky, ktoré sú od seba vzdialené (napr. č.2 s č.15). **Je nebezpečné porovnávať prúžky z rôznych súprav (prúžky s rôznymi sériovými číslami) (falošné výsledky)**.

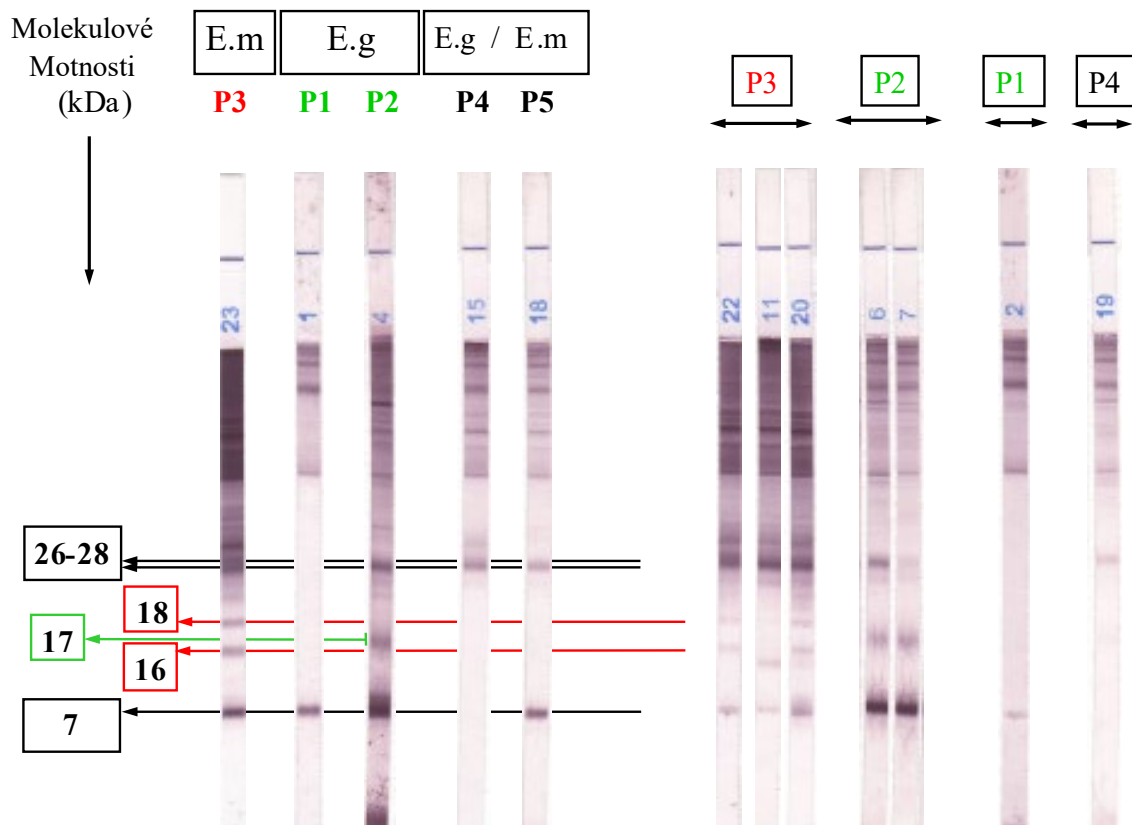
KONTROLA KVALITY A INTERPRETÁCIA

Sérová kontrola (R10) dodaná so súpravou musí byť systematicky zahrnutá v každej sérii imunoblotov. Ukazuje typický profil a umožňuje technické overenie dobrého priebehu skúšky (pásky sa musia na prúžku objaviť veľmi jasne) a presne kalibrovať polohu a aspekt špecifických pásov, aby sa umožnila interpretácia výsledkov pásov z rovnakých testov (rovnaké sériové číslo).

Poznámka: Poznámka: Profil pozitívnej kontroly (R10) sa môže líšiť podľa druhu šarží použitých reagensí. Zodpovedajúce obrázky sú dostupné napríklad na našej webovej stránke www.ldbiodiagnostics.com.

Popis pásiem

- Oblasť čítania sa nachádza na spodnej polovici pásu, medzi 7 a 26-28 kDa. Pás 26-28 kDa je spomenutý, pretože sa môže prezentovať v rôznych aspektoch: jeden úzky pás (pri 26 alebo 28 kDa), dvojitý pás (26 a 28 kDa) alebo veľký pás pokrývajúci celú oblasť od 26 do 28 kDa.
- Krajné pásky 7 a 26-28 kDa sa používajú na diagnostiku rodu *Echinococcus*
- (pozri nižšie: § Interpretácia I).
- Stredná časť pásov, nachádzajúce sa medzi 7 a 26-28 kDa, sa používajú, ak sú prítomné, na diagnostiku druhu *granulosus* alebo *multilocularis* (pozri nižšie: § Interpretácia II):



Obr. 1: Príklady pozitívnych a negatívnych výsledkov

Profily sú uvedené ako príklady. Pásky sú označené písmenom "D" špecifickým pre parameter zo šarže "03023".

Interpretácia

- Diagnostika rodu :
 - Prítomnosť extrémnych 7 a / alebo 26-28 kDa pásiem
- Diagnostika druhu :
 - Profile **P1** ou **P2** : *Echinococcus granulosus* (E.g)
 - Profile **P3** : *Echinococcus multilocularis* (E.m)
 - Profile **P4** ou **P5** : *E. multilocularis* ali *E. granulosus*

Interpretácia I diagnóza rodu *Echinococcus*:

Vyhľadajte prítomnosť pásov 7 a/alebo 26-28 kDa pre každú zo vzoriek testovaných s kalibračnými nástrojmi opísanými vyššie (tieto pásy sú typické a všeobecne veľmi ľahko lokalizovateľné).

Prítomnosť pásov krajných 7 a/alebo 26 až 28 kDa je potrebná na interpretáciu testu ako pozitívneho, že protilátky anti-*Echinococcus* IgG sú prítomné v testovanej vzorke.

Interpretácia II diferenciálna diagnóza druhu *E. granulosus* versus *E. multilocularis*:

To sa robí vyhľadávaním špecifických pásov jedného alebo druhého z iných druhov v medzipriestore medzi 7 a 26 kDa.

- Pásy spoločné pre oba druhy: 12, 15, 20, 24 kDa
- Úzke pásy sa našli len u *E. multilocularis*: 16, 17, 18 kDa
- Pás sa nachádzal len u *E. granulosus*: veľký difúzny pás pri 17 kDa.

Možno nájsť 5 rôznych profilov:

- Profily P1, P2 a P3 (zistené v 70% prípadov) diagnostikujú druh:

PROFIL P1: Izolované len 7 kDa pásmo.	<i>Echinococcus granulosus</i>
PROFIL P2: Pás 7 kDa + veľký difúzny pás 17 kDa. (Poznámka: pásmo 26-28 kDa je tiež veľmi často prítomné.)	<i>Echinococcus granulosus</i>
PROFIL P3: Pásy 26-28 + úzke pásy 16 a/alebo 18 kDa. (Pozn.: väčšina ostatných 7, 12, 15, 17, 20 alebo 24 kDa pásiem je veľmi často prítomných.)	<i>Echinococcus multilocularis</i>

- Posledné 2 profily P4 a P5 (zistené v 30% prípadov) nerozlišujú dva druhy *E. granulosus* a *E. multilocularis*.

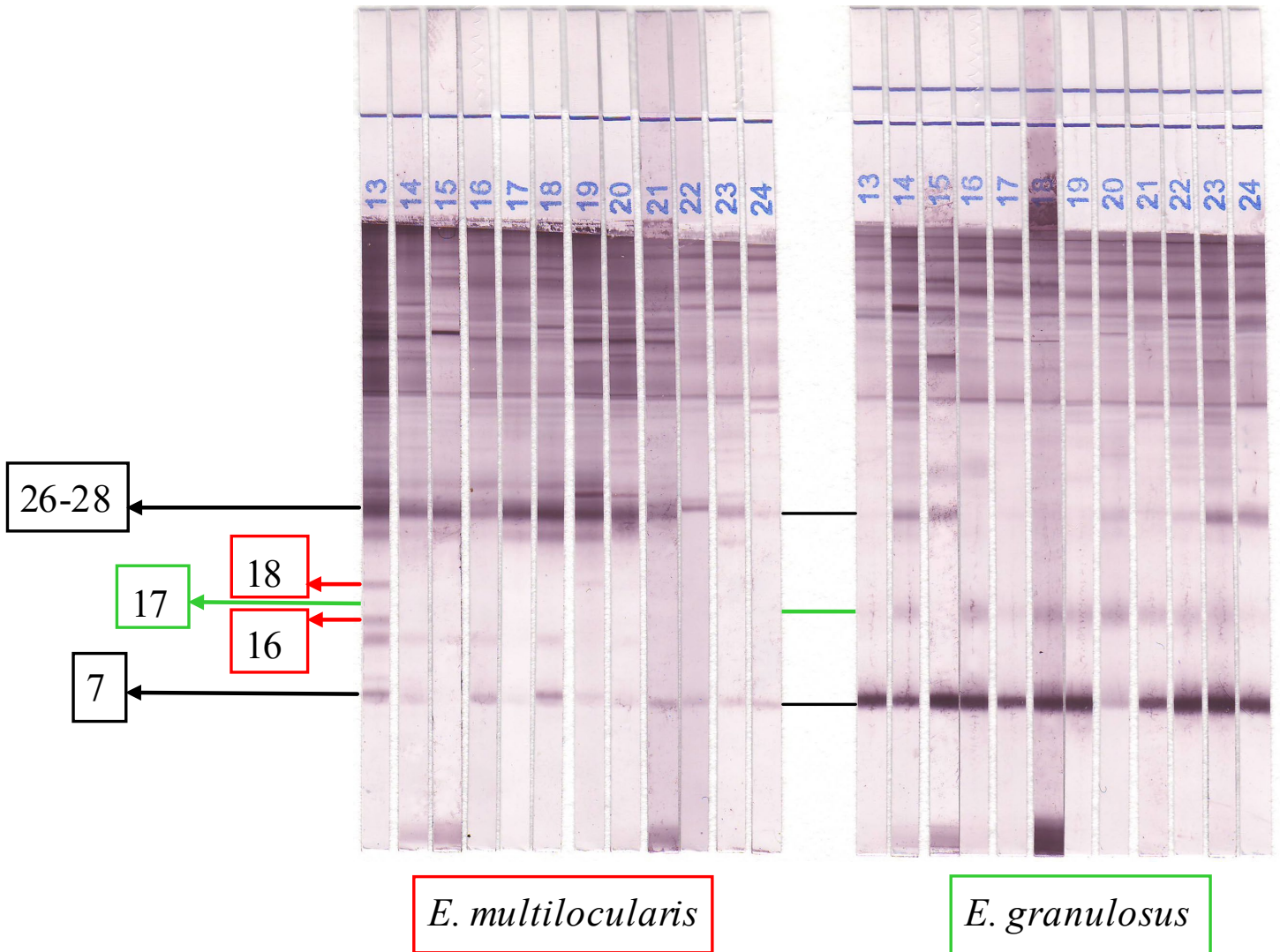
PROFIL P4: izolovaný len 26-28 kDa pásmo.	Žiadny stredný pás
PROFIL P5: asociácia pásiem 7 + 26-28 kDa.	Žiadny stredný pás

Poznámka 1: Izolovanú prítomnosť jedného alebo viacerých prechodných pásov (12, 15, 16, 17, 18, 20 alebo 24 kDa) nemožno považovať za špecifickú. Tieto pásy sa v prípade echinokokózy nikdy nenachádzajú izolovane, ale sú vždy spojené s pásmami 7 kDa a / alebo 26-28 kDa.

Poznámka 2: Pásy vyššie a zriedkavejšie pod oblasťou 7-28 kDa sú veľmi často prítomné. Nesmú sa použiť na interpretáciu testu.

Poznámka 3: Výnimočne sa pás 16 kDa javil väčší ako normálny u pacienta infikovaného *E. multilocularis*. Dávajte si pozor, aby ste tento pás nezamieňali s veľkým pásmom 17 kDa, ktorý je špecifický pre *E. granulosus*.

Poznámka 4: Stredové pásma sú menej intenzívne ako pásy 7 a 26 až 28 kDa. Ich správne vyvíjanie často vyžaduje inkubáciu v substráte počas 60 minút. Neprerušujte ho príliš skoro.



Obr. 2: Ďalšie príklady pozitívnych vzoriek imunoblotu, ktoré pochádzajú od pacientov infikovaných *E. multilocularis* a *E. granulosus*.

Profily sú uvedené ako príklady. Pásy sú označené písmenom "D" špecifickým pre parameter zo šarže "03023".

Tieto vzorky boli špeciálne vybrané tak, aby boli slabo pozitívne: všetky profily *E.m* sú neúplné (s výnimkou prvého pásu č. 13).

Je zaujímavé všimnúť si nesúhlas s profilmi, ktoré sa zvyčajne nachádzajú pre každý druh:

E. multilocularis: Pás 26-28 kDa sa často objavuje vo forme dvojitého pásma a je najintenzívnejší.

E. granulosus: inverzne, najintenzívnejším pásmom je pásmo 7 kDa.

Toto pravidlo však nie je absolútne (napr. Pásmo *E. m* č. 24 - pásmo *E. g* č. 20)

Na potvrdenie výsledkov vždy porovnajte profil imunoblotu každej vzorky s profilom R10 pozitívnej kontroly. Pri interpretácii testu je dôležitý aspekt pásov.

OBMEDZENIA POUŽÍVANIA

- Diagnózu infekčného ochorenia nemožno stanoviť na základe jediného výsledku testu.
- Sérologické výsledky sa musia interpretovať podľa dostupných informácií (napr. Epidemiológia, klinický obraz, zobrazovanie, biológia atď.) S cieľom stanoviť diagnózu. Nemali by sa používať na stanovenie diagnózy iba na základe ich pozitivity.

CHARAKTERISTIKA (POZRI ODKAZY NA LITERATÚRU)

Citlivosť (Se)

Multicentrická štúdia [9], ktorá sa uskutočnila v dvoch nezávislých špecializovaných laboratóriách a zahŕňala 111 pacientov séra (50 prípadov hydatidózy a 61 prípadov alveolárnej echinokokózy identifikovaných s istotou), poskytla tieto výsledky:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: získaných profilov					
	Neg	P1	P2	P3	P4	P5
Hydatidosis (n=50)	1	12	22	0	1	14
Alveolar Echinococcosis (n=61)	2	0	0	41	7	11
Totálnej (n=111)	3	12	22	41	8	25

Tabuľka 1: Citlivosť získaného testu a profilov

Citlivosť testu: **Se = 97,3% vzhľadom na rod *Echinococcus***
 Se = 98% vzhľadom na druh *E. granulosus*
 Se = 96,7% vzhľadom na druh *E. multilocularis*

Diagnóza druhu: *E. granulosus* versus *E. multilocularis* :

Tabuľka 1 umožňuje vypočítať schopnosť rozlišovať medzi týmito dvoma druhmi zo **67,6%** (profily P1 + P2 + P3).

Špecifickosť - Krížové reakcie (Sp)

147 sérových vzoriek, čo zodpovedá 147 pacientom, sa testovalo pomocou súpravy **ECHINOCOCCUS WB IgG** od dvoch predchádzajúcich laboratórií.

Patria sem séra pacientov trpiacich týmito ochoreniami: neuro-cysticerkóza *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) a nasledujúce autoimunitné ochorenia: RF reumatoidný faktor (8), ANA anti-nukleárne protilátky (12).

139 sér je negatívnych, čo dokazuje **94.6% špecificitu** v tejto populácii.

8 skrížených reakcií sa pozorovalo výlučne ako súčasť:

- cysticerkóze: prítomnosť izolovaného pásu 7 kDa u 5/42 pacientov.
- o autoimunitné ochorenia: prítomnosť izolovaného úzkeho pásu pri 28 kDa u 1/8 pacientov (FR +) a 2/12 pacientov s ANA +.

Nota Bene : Fasciolosa: prítomnosť 4 izolovaných testovaných pacientov s prítomnosťou izolovaného veľmi veľkého pásu (25-30 kDa) sa nedá zamieňať so špecifickým pásom 26-28.

Záver

Korelácia medzi **ECHINOCOCCUS WB IgG** a klinickým stavom je vynikajúca.

Citlivosť Se = 97.3% [CI95 91.7 - 99.3%]

Špecifickosť Sp = 94.6% [CI95 89.2 - 97.4%]

Profil *E. multilocularis* (profil P3)

Senzitivita = 67,2 % [CI95 53,9 - 78,4 %] Špecifickosť vo vzťahu k *E. granulosus* = 100 % [91,1 - 100 %].

Profil *E. granulosus* (profily P1 a P2)

Citlivosť = 68 % [CI95 53,2 - 80,1 %] Špecifickosť v porovnaní s *E. multilocularis* = 100 % [92,6 - 100 %]. Poznámka: Profil P1 sa však zistil v 5 prípadoch (zo 42) cysticerkózy.

Intervaly spoľahlivosti sa počítajú podľa Wilsonovej metódy s korekciou kontinuity.

Presnosť

Bola testovaná reprodukovateľnosť medzi sérami a medzisložkami. V oboch prípadoch je korelácia séra na sérum vzhľadom na špecifické pásy vynikajúca.

Interferencia

Napriek tomu, že pri hemolyzovaných, ikterických alebo lipidových sérach nebola pozorovaná žiadna špecifická skrížená reakcia, odporúča sa starostlivo interpretovať výsledky z použitia takýchto vzoriek.

RIEŠENIE PROBLÉMOV

"Pásy sú bledé s malým kontrastom" : Niektoré séra s nízkymi koncentraciami protilátok môžu poskytnúť takéto výsledky.

"Tieňované oblasti môžu byť viditeľné, viac či menej farebné, mierne difúzne" : Pás nebol úplne ponorený v jednom z činidiel a neinkuboval sa správne po celej jeho dĺžke. Môžu byť prítomné aj škvrny tam, kde bola vzorka uložená, ak sa tácka po dávkovaní neotrela.

"Šum v pozadí je značný, čo robí čítanie veľmi ťažké" : Umývanie bolo nedostatočné alebo posledná inkubácia bola príliš dlhá. Zabezpečte dobré techniky testovania, rešpektujte časy prania a zabezpečte kvalitu vody. Znížte čas poslednej inkubácie.

Výnimočne môžu určité séra reagovať nešpecifickým spôsobom. Potom nie je možné použiť výsledok imunoblotu.

Tento nešpecifický šum pozadia môže zahŕňať iba časť pásu, čo robí výsledky neinterpretovateľnými len pre túto časť.

"V poslednom kroku vývoja sa v roztoku objaví zrazenina" : substrát sa môže na konci vývoja čiastočne vyzrážať (čierne vločky) v pufri. Tento jav nemení kvalitu vývoja, ktorý musí normálne pokračovať. Posledné premytie destilovanou vodou eliminuje možné prítomné pevné častice.

BIBLIOGRAFIJA

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.

Upozornenie na aktualizáciu - Prečítajte si pozorne

DATUM VYDANIA	VERZIA	ZHRNUTIE UPRAV
30/11/2022	Vs16	Nová adresa
07/12/2022	Vs17	R6 bez NaN3. Pásik označený písmenom D. Možné použitie činidiel z rôznych šarží.



NF EN ISO 134855

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