

# LEISHMANIA



## Western Blot IgG

*In vitro* diagnostični imunoblotski test  
Polavtomatska / ročna tehnika

#LES-WB24G: 24 testov

#LES-WB12G: 12 testov

#LES-WB96G: 96 testov

## NAVODILA ZA UPORABO

Poiščite več informacij in navodila za uporabo v svojem jeziku na naši spletni strani  
[www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com)

## Predvidena uporaba

**LEISHMANIA Western Blot (WB) IgG** test je kvalitativni test za enkratno uporabo serološke IgG diagnoze imunoblot testom lišmanioze, ki je namenjen potrditvenemu testiranju pozitivnega ali dvoumnega rezultata, pridobljenega s klasičnimi presejalnimi testi.

## Načelo testa

### Western Blot tehnika

Z elektroforezo ločeni antigeni parazita *Leishmania infantum* se preko električnega blotinga vežejo na površino nitrocelulozne membrane (t.i. prenos), ki je razrezana na 24 trakov, oštevilčenih od 1 do 24.

### Izvedba testa

Vsak vzorec za individualno testiranje je ločeno inkubiran s trakom. Specifična protitelesa, ki so lahko prisotna v vzorcu, se selektivno vežejo na antigene. Konjugat alkalna fosfataza-proti človeški IgG se nato veže na vezana protitelesa. Končno imunokompleksi reagirajo s substrati. Antigeni, ki jih prepoznajo specifična protitelesa tipa IgG, prisotna v vzorcih, se pokažejo kot vijolične prečne črte.

## Reagenti so vključeni v komplet

Privzeto: paket 24 testov (#LES-WB24G)

ležeče: paket 12 testov (#LES-WB12G) – **krepko: Paket 96 testov (#LES-WB96G).**

ID	Količina	Opis	Sestava
R1	1	Mapa/mape s 24 (12, 4 x 24) TRAKOVI: razrezani + obarvani, standardni. (Vsaka mapa in vsak prenos ima enkratno identifikacijsko serijsko številko)	Senzibilizirana nitroceluloza. Obarvana molekulska masa (kDa): Modra: 250, modra: 150, modra: 100, rožnata: 75, modra: 50, zelena: 37, rožnata: 25, modra: 20, modra: 15, rumena: 10.
R2	1	Viala s 30 (30, 125) ml VZORČNEGA PUFRA (pripravljen za uporabo – rožnata raztopina).	Pufer + površinsko aktivna snov.
R3	1	Viala/viale s 30 (30, 2 x 60) ml KONJUGATA PROTI IgG (pripravljen za uporabo – modra raztopina).	Pufer + poliklonalni serumi kozjega izvora s proti človeškim IgG, konjugirani z alkalno fosfatazo + NaN3 (< 0,1 %) + stabilizatorji.
R5	1	Viala s 30 (30, 125) ml SUBSTRATA (pripravljen za uporabo – motno rjava viala).	Pufer + NBT + BCIP + stabilizatorji.
R6	1	Viala s 60 (60, 250) ml 10-KRATNI KONCENTRAT PUFRA ZA PRANJE (10-krat ga razredčite v destilirani vodi – brezbarvna raztopina).	Pufer + površinsko aktivna snov.
R10	1	Epruveta z 200 (200, 2 x 200) µl SERUMA ZA POZITIVNO KONTROLO (pripravljen za uporabo – rdeč zamašek).	Pufer + zbiri človeškega seruma s pozitivno serologijo na <i>Leishmania</i> + NaN3 (< 0,1 %) + stabilizatorji.

**R1:** Črka pred vsako številko traku je značilna za parameter.

**R2, R3, R5 in R6** so skupni vsem kompletom in imajo enkratno serijsko številko, ki je odvisna od datuma njihove proizvodnje. **Priporočamo, da z namenom omejitve števila odprtih vial in zagotavljanja boljšega nadzora kakovosti izvedete večparametrsko testiranje (glejte LDBIO obseg imunoblot testa).**

**R10** je umerjen v imunoblotu v skladu z referenčno serijo in je namenjen samo tej tehniki.

R3, R10 (NaN3): EUH 032 - V stiku s kislinami se sprošča zelo strupen plin.

EUH 210 Varnosti list na voljo na zahtevo in na naši spletni strani [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com).

## Zahtevani so dodatni materiali, ki niso priloženi

- Večkanalni inkubacijski pladnji iz polipropilena za mini blot teste (# WBPP- 08 ali enakovredno).
- Stresalna plošča za imunoblot teste, vakuumski sistem za tekočine (priložene kadi # WBPP- 08 lahko preprosto izpraznite tako, da jih preobrnete).
- Epruvete in materiali za odvzem vzorcev, jeklenke, prilagojeni vsebniki. Samodejne pipete, mikropipete in konice za enkratno uporabo (prostornine 25 µl, 1,2 ml in 2 ml).
- Destilirana ali deionizirana voda. Vpojni papir (npr. Whatmanov filtrirni papir), prozoren lepilni trak.
- Rokavice, pinceta za ravnanje s trakovi, rezilo ali skalpel, prozorno ploščato ravnilo.

Opomba: Naše reagente je mogoče uporabljati v avtomatskem procesorju za izvedbo imunoblot testov. **Če v procesorju hkrati uporabljate reagente drugih proizvajalcev, pazite, da ne pride do kemične ali bakterijske kontaminacije naših reagentov** (znan primer: kontaminacija s TWEEN 20). Za procesor rezervirajte posebne vialne. Po obdelavi uporabljenih reagentov ne shranjujte v izvorne vialne.

## Hramba in stabilnost

Hranite med 2 in 8 °C. Reagenti iz kompleta so stabilni do roka trajanja, ki je naveden na zunanem delu škatle in na oznakah na vialah. Ne uporabljajte kontaminiranega ali motnega reagenta. Pufer za pranje, razredčen na 1/10, je stabilen 2 meseca pri temperaturi od +2 do +8 °C ter en teden pri sobni temperaturi.

## Previdnostni ukrepi pri uporabi

### Varnost

- Samo za uporabo *in vitro*. Samo za profesionalno uporabo. Samo za tehnično usposobljeno osebje. S snovmi ravnajte v skladu z Dobrimi laboratorijskimi praksami ter upoštevajte, da je vsak reagent in vsak vzorec lahko strupen in/ali kužen.
- Nosite laboratorijsko haljo, rokavice in zaščitna očala: v laboratoriju ne pijte, jejte ali kadite. Tekočin iz pipet ne prelivajte z usti.
- Pozitivna kontrola je serum človeškega izvora, ki je bil inaktiviran za viruse HIV 1 in 2, hepatitis B in hepatitis C. Kljub temu z njim ravnajte kot s potencialno kužnim proizvodom.
- Substrat vsebuje mešanico NBT in BCIP ter je strupen ob stiku (s kožo in sluznicami) in ob vdihavanju.
- Reagenti vsebujejo natrijev azid, ki lahko s svincem in bakrom tvori eksplozivne kovinske soli. Če polijete katero koli izmed snovi, jo izperite z vodo.
- Odpadke (vzorci, konice, epruvete, tekočino za pranje, rabljene reagente idr.) zavržite v skladu z dobrimi sektorskimi praksami in aktualnimi predpisi, ki veljajo v državi.
- Vsak resen incident mora biti predmet prijave proizvajalcu in pristojnemu organu.

### Previdnostni ukrepi

- Rezultate preberite in interpretirajte pod direktno belo svetlobo.
- Zaželeno je, da uporabite vse reagente iz iste serije. Če uporabljate različne serije, zagotovite sledljivost.
- Trakove uporabljajte v številčnem zaporedju. Ne mešajte trakov z različnimi serijskimi številkami; prenose uporabite enega za drugim. Pred začetkom testiranja določite specifičen načrt distribucije.
- Trakov se ne dotikajte s prsti – uporabite pinceto.
- Reagente pred uporabo dobro premešajte, zlasti koncentrirani pufer za pranje.
- Viale po uporabi zamašite; ne uporabljajte jih, če je bila v reagente pomotoma vnešena snov. Ne uporabljajte reagenta iz vial, ki kaže znake puščanja. Ne uporabljajte motne ali oborjene raztopine.
- Uporabljajte zgolj konice pipet za enkratno uporabo. Preprečite vsakršno kontaminacijo med kanali. Prepričajte se, da se na konicah pipet ne delajo pena ali mehurčki (bakterijska kontaminacija vial z reagenti).
- Inkubacijske pladnje čistite samo z destilirano vodo (nikoli z detergentom ali belilom).
- Če spustite vzorec ali razdelite neprimerno količino, lahko rezultat negativnega ali pozitivnega testa, ne glede na njegovo dejansko stanje.

## Odvzem vzorcev

Vzorci aseptično odzemi v suhe epruvete. Potrebovali boste najmanj 25 µl seruma.

Do obdelave hranite vzorce pri temperaturi 2–8 °C. Če je treba vzorce hraniti več kot en teden, zamrznite pri -20 ± 5 °C. Ne uporabljajte kontaminiranih vzorcev. Izogibajte se večkratnemu zamrzovanju in odmrzovanju vzorcev.

Čeprav pri hemoliziranem, zlateničnem ali lipidnem serumu ni bila opažena nikakršna navzkrižna reakcija, pri rezultatih uporabe tovrstnih vzorcev svetujemo skrbno interpretacijo.

## Priprava reagentov

**Pufer za pranje:** Za 4 teste v čisti posodi 10-krat razredčite 10 ml koncentrata za pranje (**R6**) v 90 ml destilirane ali deionizirane vode. Pazite, da razredčeni pufer dobro premešate.

## Postopek izvedbe testa

*Zapomnite si:* Priporočamo, da z namenom omejitve števila odprtih vial in zagotavljanja boljšega nadzora kakovosti izvedete večparametrsko testiranje (glejte LDBIO obseg imunoblot testa).

1. Za vzorce in pozitivno kontrolo C+ (**R10**) pripravite načrt distribucije.

Test je lahko za določeno serijsko številko glede na specifične razvite trakove tehnično ovrednoten in identificiran le, če uporabite to kontrolo. Traku C+ ni mogoče uporabiti za interpretacijo rezultatov blot testa na traku z drugo serijsko številko.

2. Zahtevano število trakov (R1) izrežite s skalpelom ter čistim in suhim ploskim, prozornim ravnilom, pri čemer modro pozicijsko črto držite na trakovih: s pomočjo ravnila trakove trdno pridržite na mestu in jih odrežite na strani upogiba (številke lahko vidite skozi ravnilo).
3. V vsak kanal vnesite 1,2 ml vzorčnega pufra (R2) v skladu z načrtom.
4. Oštevilčene trakove po številčnem redu položite v kanale: Dovolite, da se trakovi rehidrirajo na površini pufra približno 2 minuti, pri čemer naj bodo njihove številke vidne na vrhu, NATO nežno stresite pladenj in zagotovite, da se trakovi popolnoma potopijo v pufer.
5. Razdelite vzorce in pozitivno kontrolo/kontrole: po načrtu distribucije in v odmerku 25 µl na kanal. Po vsakem vnosu nežno stresite pladenj. Pladenj položite na stresalno ploščo. **Inkubirajte 90 min.** ± 5 min. pri 20–26 °C.
6. Pranje: Vsebino kanalov odstranite s Pasteurjevo pipeto ali tako, da preobrnete inkubacijski pladenj. V vsak kanal vnesite 2 do 3 ml razredčenega pufra za pranje. Na stresalni plošči inkubirajte 3 minute. Ponovite 2-krat in izpraznite kanale. Pazite, da se pri izvajanju teh korakov trakovi ne obračajo.
7. V vsak kanal vnesite 1,2 ml konjugata proti anti IgG (R3). Pladenj položite na stresalno ploščo. **Inkubirajte 60 min.** ± 5 min. pri 20–26 °C.
8. Pranje: ponovite 6. korak.
9. V vsak kanal vnesite 1,2 ml substrata NBT/BCIP (R5). Pladenj položite na stresalno ploščo in ga zaščitite pred neposredno svetlobo. **Inkubirajte 60 min.** ± 5 min. pri 20–26 °C.

Spremljajte spreminjanje barve ne glede na parametre. Spreminjanje barve lahko ustavite, če barva ozadja na traku potemni do točke, ki oteži odčitavanje (kakovost pranja ključno vpliva na obarvanje ozadja). Upoštevajte, da bodo med sušenjem trakovi postali svetlejši.

10. Reakcijo ustavite z aspiracijo substrata s Pasteurjevo pipeto ali tako, da preobrnete inkubacijsko kad, ter v kanale vlijete 2 ml destilirane vode. Zadnji korak pranja ponovite še enkrat.
11. Sušenje trakov: Ko je v kanalih še voda, s pinceto zgrabite trakove na oštevilčenem koncu in jih položite na Whatmanov filtrirni papir tako, da številka ostane vidna. Pustite, naj se posušijo na zraku. Med sušenjem bodo trakovi naravno postali svetlejši. Trakove lahko interpretirate šele, ko se popolnoma posušijo.
12. Hramba: Trakove prenesite na list papirja, ki bo uporabljen za arhiviranje. Poravnajte pozicijske črte. Vrhnji del trakov pridržite na mestu s ploskim ravnilom in jih pritrdite s prozornim lepilnim trakom.

Za uspešno interpretacijo trakov jih uredite glede na prenos in po številčnem redu ter največ nekaj milimetrov narazen. Primerjava trakov, ki so nameščeni daleč stran drug od drugega (npr. trak št. 2 in trak št. 15), ni zanesljiva. Primerjava trakov iz različnih kompletov (z različnimi serijskimi številkami) **ni varna** (prikažejo se lahko lažni rezultati).

## Nadzor kakovosti in interpretacija

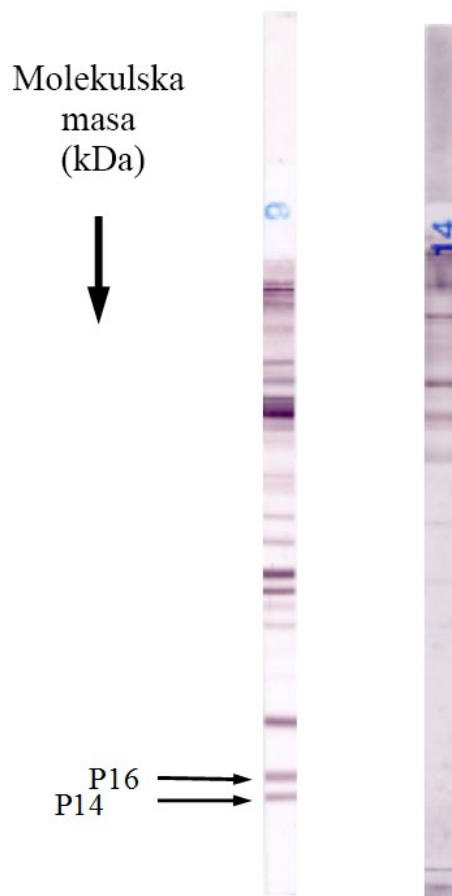
Serumsko kontrolo (R10) v kompletu morate sistematično vključiti v vsako serijo imunoblot testov. Kontrola prikazuje tipični profil in omogoča tehnično vrednotenje ustrezne izvedbe testa (črte, ki se pojavijo na trakovih, morajo biti zelo jasno vidne) ter točno kalibracijo položaja in videza določenih črt, kar predstavlja temelj za interpretacijo rezultatov s trakov v istem prenosu (z isto serijsko številko).

*Nota Bene:* Profil pozitivne kontrole (R10) se lahko razlikuje glede na število partij uporabljenih reagentov. Ustrezne slike so na primer na našem spletnem mestu [www.ldbiodiagnostics.com](http://www.ldbiodiagnostics.com).

### Opis trakov

V primeru pozitivnega vzorca se lahko med 8 in 200 kilodaltoni (kDa) prikažejo številne črte. Nekatere črte so specifične za lišmaniozo. Kljub temu je slabost njihove uporabe dejstvo, da jih je težko locirati med drugimi črtami brez določene specifičnosti.

Pri vsakem testiranem vzorcu s pomočjo zgoraj opisanih orodij za kalibracijo poiščite črto pri 14 in/ali 16 kDa. Ti črti, ki se nahajata na spodnji strani traku in sta običajno izrazito osamljeni, je navadno izjemno preprosto interpretirati.



**Slika 1:** Primeri pozitivnih in negativnih rezultatov

Profili so navedeni kot primeri. Trakovi so označeni s črko "C", ki je značilna za parameter iz serije "02008".

### Interpretacija

Za interpretacijo testa kot pozitivnega in oblikovanje sklepa, da so v testiranem vzorcu prisotna protitelesa IgG proti parazitu *Leishmania*, mora biti prisotna antigenska črta pri 14 in/ali 16 kDa.

*Za ovrednotenje rezultatov vselej primerjajte profil imunoblot testa vsakega vzorca s profilom imunoblot testa pozitivne kontrole R10. Pri interpretaciji testov je pomemben videz trakov.*

## Omejitve uporabe

- Diagnoze kužne bolezni ni mogoče postaviti na podlagi rezultatov enega samega testa.
- Serološki rezultati morajo biti za postavitev diagnoze interpretirani v skladu z razpoložljivimi podatki (npr. z epidemiološkega, kliničnega, biološkega področja, področja zajema slik itd.). Ne smemo jih uporabljati kot podlago za diagnozo samo na podlagi njihove pozitivnosti.

*Negativen serološki rezultat ne izključuje diagnoze visceralne lišmanioze, zlasti pri bolnikih z oslabljenim imunskim sistemom. Ob vsakršnem sumu na lišmaniozo je treba takoj izvesti parazitološko iskanje protozojev.*

## Izvedbe (glej reference literature)

Test **LEISHMANIA WB IgG** je bil predmet primerjalne študije, ki jo je s tehnikami IFA in ELISA izvedel neodvisen laboratorij.

### Občutljivost:

	IFA	ELISA	WB
POZITIVNI	41	40	51
NEGATIVNI	10	11	0

**Tabela 1:** 51 vzorcev seruma bolnikov z napredno visceralno lišmaniozo je bilo testiranih s 3 tehnikami. Tehniki ELISA in IFA sta pokazali lažno negativne rezultate, zlasti pri bolnikih z oslabljenim imunskim sistemom (HIV)

	IFA	ELISA	WB
POZITIVNI	0	0	15
NEGATIVNI	20	20	5

**Tabela 2:** 20 vzorcev seruma zdravih, živih bolnikov z endemičnega območja in s pozitivnim testom občutljivosti kože je bilo vzporedno testiranih s tremi tehnikami: občutljivost tehnik IFA in ELISA ni zadostna za zaznavanje izredno nizkih ravni protiteles.

### Specifičnost:

	IFA	ELISA	WB
POZITIVNI	0	0	0
NEGATIVNI	30	30	30

**Tabela 3:** 30 vzorcev seruma zdravih, živih odraslih bolnikov z neendemičnega območja je bilo v neodvisnem laboratoriju testiranih vzporedno s tehnikami imunoblot, ELISA in IFA: specifičnost vseh treh tehnik je bila 100-odstotna. NB: Pri bolnikih s tripanosomiozo (*T. cruzi*) se ne glede na tehniko pogosto pojavijo lažno pozitivne reakcije.

## Zaključek

WB ima odlično občutljivost, ki mu omogoča učinkovito odkrivanje bolnikov z visceralno lišmaniozo tudi v imunski depresiji.

Omogoča odkrivanje asimptomatskih nosilcev, hkrati pa ima odlično specifičnost, kar dokazuje odsotnost pozitivnih serumov pri ne-endemičnih bolnikih.

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

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

Intervali zaupanja se izračunajo po Wilsonovi metodi s korekcijo kontinuitete.

## Ponovljivost:

Testirana je bila ponovljivost znotraj serij in lotov. V obeh primerih je korelacija serum-serum glede specifičnih črt odlična.

## Motnje:

Čeprav pri hemoliziranem, zlateničnem ali lipidnem serumu ni bila opažena nikakršna navzkrižna reakcija, pri rezultatih uporabe tovrstnih vzorcev svetujemo skrbno interpretacijo.

## Odpravljanje težav

»**Trakovi so bledi in ne kažejo jasnih kontrastov**«: Tovrstni rezultati so možni pri nekaterih serumih z nizko koncentracijo protiteles.

»**Opaziti je zatemnjena področja, ki so bolj ali manj obarvana in nekoliko razpršena**«: Trak ni bil popolnoma potopljen v enega izmed reagentov, zaradi česar ni bil ustrezno inkubiran po celotni dolžini. Če pladnja po vnosu snovi niste pretresli, se lahko na mestu, kamor je bil vzorec položen, pojavijo tudi madeži.

»**Šum v ozadju je moteč, zaradi česar je odčitavanje izredno zahtevno**«: Pranje ni bilo dovolj izčrpno ali pa je bila zadnja inkubacija predolga. Prepričajte se, da uporabljate ustrezne tehnike izvajanja testa, ter upoštevajte čas pranja in zagotovite vodo visoke kakovosti. Skrajšajte čas inkubacije.

Izjemoma lahko določene vrste seruma reagirajo na nespecifičen način. V tovrstnih primerih rezultati imunoblot testa niso uporabni.

Ta nespecifični šum v ozadju se lahko pojavi samo na enem delu traku, pri čemer rezultatov ni mogoče odčitati le na tistem delu.

»**Med zadnjim delom spreminjanja se v raztopini pojavi oborina**«: ob koncu spreminjanja se lahko substrat v pufru dejansko delno obori (nastanejo črne luske). Ta pojav ne vpliva na kakovost spreminjanja, s katerim lahko nadaljujete normalno. Zadnje pranje z destilirano vodo odstrani morebitno prisotne trdne delce.

## Bibliografija

- 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 Surveillace: 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.

#### Obvestilo o posodobitvi - Pozorno preberite

DATUM IZDAJE	RAZLIČICA	POVZETEK SPREMEMB
02/08/2021	Vs 15	Odstranitev varnostnega opozorila R5 - Kontaktni e-poštni naslov – NaN3 EUH 032.
24/10/2022	Vs16	R6 brez NaN3. Trakovi označeni s črko C. Možnost uporabe reagentov iz različnih serij.
30/11/2022	Vs17	Novi naslov



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](mailto:info@ldbiodiag.com)