ECHINOCOCCUS CE

Western blot IgG

Immunoblot-Assay für die *in-vitro*-Diagnostik

#ECH-WB24G : 24 tests
#ECH-WB12G : 12 tests
#ECH-WB96G : 96 tests

GEBRAUCHSANWEISUNG

Verwendungszweck

ECHINOCOCCUS Western blot (WB) IgG ist ein qualitativer Test der serologischen IgG-Diagnose mittels Immunoblot-Assay auf alveoläre Echinokokkose und zystische Echinokokkose (Hydatidose), der als Bestätigungstest bei einem positiven oder mehrdeutigen Ergebnis in klassischen Screeningtests vorgesehen ist.

Testprinzip

Westernblot-Technik: Die Antigene (Larven des *Echinococcus multilocularis)* werden nach der Trennung durch Elektrophorese mittels Elektroblotting an die Oberfläche einer Nitrocellulosemembran gebunden (Transfer genannt), die in 24 von 1 bis 24 nummerierte Streifen geschnitten wird.

Durchführung des Tests**:** Jede zu prüfende Serumprobe wird separat mit einem Streifen inkubiert. Die potenziell in der Probe vorhandenen Anti-*Echinococcus*-Antikörper binden selektiv an die Antigene. Das alkalische Phosphatase Anti-Human-IgG-Konjugat bindet dann an die gebundenen Anti-*Echinococcus*-Antikörper. Abschließend reagieren die Immunkomplexe mit dem Substrat. Die in den Proben vorhandenen, von den Anti-*Echinococcus*-Antikörpern erkannten Antigene vom Typ IgG werden als violette querverlaufende Banden dargestellt.

Im Kit enthaltene Reagenzien

kursiv: Packung mit *12 Tests (#ECH-WB12G)* - **fett:** Packung mit **96 Tests (#ECH-WB96G)**.

ID	Menge	Beschreibung	Zusammensetzung
R1	1	Block/Blöcke mit 24 (*12*, **4 x 24**) STREIFEN: vorgeschnittener + gefärbter Standard. (Jeder Block und jeder Transfer sind mit einer eigenen einzigartigen Seriennummer gekennzeichnet)	Sensibilisierte Nitrocellulose. Gefärbtes Molekulargewicht (kDa): Blau: 250, Blau: 150, Blau: 100, Rosa: 75, Blau: 50, Grün: 37, Rosa: 25, Blau: 20, Blau: 15, Gelb: 10.
R2	1	Fläschchen mit 30 (*30,* **125**) ml PROBENPUFFER (Gebrauchsfertig – rosafarbene Lösung).	Puffer + Tensid + NaN3 (< 0,1 %).
R3	1	Fläschchen mit 30 (*30,* **2 x 60**) ml ANTI-IgG-KONJUGAT (Gebrauchsfertig – blaue Lösung).	Puffer + anti-humane IgG polyklonale Ziegensera konjugiert mit alkalischer Phosphatase + NaN3 (< 0,1 %) + Stabilisatoren.
R5	1	Fläschchen mit 30 (*30,* **125**) ml SUBSTRAT (Gebrauchsfertig – opakbraunes Fläschchen).	Puffer + NBT + BCIP + Stabilisatoren.
R6	1	Fläschchen mit 60 (*60,* **250**) ml WASCHKONZENTRAT 10X PUFFER (Muss in destilliertem Wasser 10-fach verdünnt werden – farblose Lösung).	Puffer + Tensid + NaN3 (< 0,1 %).
R10	1	Röhrchen mit 200 (*200,* **2 x 200**) µl POSITIVEM KONTROLLSERUM (Gebrauchsfertig – rote Kappe).	Puffer + Sammelprobe von Humanseren mit positiver *E. multilocularis*-Serologie + NaN3 (< 0,1 %) + Stabilisatoren.

R2, R3, R5 und R6 sind Bestandteil aller Kits und weisen eine eigene einzigartige Chargennummer auf, die nur vom jeweiligen Produktionsdatum abhängt. Es wird die Durchführung von Multiparameterserien empfohlen (siehe Immunoblot-Bandbreite von LDBIO), um die Anzahl geöffneter Fläschchen zu begrenzen und eine bessere Qualitätskontrolle zu erreichen.

Zusätzlich erforderliches Material, das nicht im Lieferumfang enthalten ist

- Multikanal-Polypropylen-Inkubationswannen für Mini-Blots (#WBPP-08 oder gleichwertig).
- Wippschüttler für Immunoblots, Vakuumsystem für Flüssigkeiten (die von uns gelieferten #WBPP-08-Wannen können durch einfaches Umdrehen geleert werden).
- Röhrchen und Material zur Probenahme, Messzylinder, angepasste Behälter. Automatische Pipetten, Mikropipetten und Einwegspitzen (Mengen von 25 µl, 1,2 ml und 2 ml).
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser. Saugpapier (z. B. Whatman Filterpapier), transparentes Klebeband.
- Latexhandschuhe, Pinzetten zur Handhabung der Streifen, Cutter oder Skalpell, flaches transparentes Lineal.

Hinweis: Unsere Reagenzien können in einem automatisierten Immunoblot-Prozessor verwendet werden. **Es sollte darauf geachtet werden, dass keine chemischen Kontaminationen unserer Reagenzien auftreten, wenn im Prozessor auch Reagenzien anderer Hersteller verwendet werden** (bekanntes Beispiel: Kontamination durch TWEEN 20), und keine bakteriellen Kontaminationen. Fläschchen für den Prozessor reservieren. Nach der Verarbeitung dürfen Reste verwendeter Reagenzien nicht zurück in die Originalfläschchen gegeben werden.

Lagerung und Stabilität

Zwischen 2 und 8 °C lagern. Die Reagenzien des Kits sind bis zum auf der Außenverpackung und den Fläschchenetiketten angegebenen Ablaufdatum stabil. 1/10 verdünnter Waschpuffer bleibt bei +2 bis +8 °C zwei Monate und bei Raumtemperatur eine Woche stabil.

Warnhinweise für den Gebrauch

Sicherheit

- Nur für *In-vitro*-Anwendung. Entsprechend der Guten Laborpraxis handhaben und jedes Reagenz und jede Probe als potenziell toxisch und/oder infektiös behandeln.
- Laborkittel, Handschuhe und Brille tragen; im Labor nicht trinken, essen oder rauchen. Pipetten nicht mit dem Mund handhaben.
- Eine positive Kontrolle ist ein Serum humanen Ursprungs, das geprüft und negativ auf HIV 1- und HIV 2-Antikörper, HCV-Antikörper und HB-Antigen getestet wurde. Trotzdem muss sie wie ein potenziell infektiöses Produkt behandelt werden.
- Das Substrat enthält eine Mischung aus NBT und BCIP und wirkt bei Kontakt (Haut und Schleimhäute) und Inhalation toxisch.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid, das mit Blei und Kupfer explosive Metallsalze bilden kann. Verschüttungen mit Wasser reinigen.
- Abfall (Proben, Spitzen, Röhrchen, Waschflüssigkeit, gebrauchtes Reagenz...) gemäß guter Praxis der Branche und aktuellen nationalen Bestimmungen entsorgen.

Vorsichtsmaßnahmen

- Keine flüssigen Reagenzien aus verschiedenen Chargen zusammen verwenden.
- Die Streifen in numerischer Reihenfolge verwenden. Streifen mit verschiedener Seriennummer nicht mischen; die Transfers der Reihe nach verwenden. Vor Testbeginn sollte ein spezifischer Aufteilungsplan erstellt werden.
- Die Streifen nicht mit den Fingern berühren; eine Pinzette verwenden.
- Die Reagenzien müssen vor der Verwendung gut vermischt werden, insbesondere der konzentrierte Waschpuffer.
- Die Fläschchen nach der Verwendung verschließen; nicht verwenden, wenn versehentlich eine Substanz in die Reagenzien gelangt ist. Reagenzien aus Fläschchen, die Anzeichen ausgelaufenen Materials aufweisen, nicht verwenden. Trübe oder ausgefällte Lösung nicht verwenden.
- Nur Einwegpipettenspitzen verwenden. Kontamination zwischen den Kanälen vermeiden. Darauf achten, ob sich in den Pipettenspitzen Schaum oder Bläschen bilden (bakterielle Kontamination der Reagenzfläschchen).
- Inkubationswannen nur mit klarem Wasser reinigen, gefolgt von destilliertem Wasser (niemals Detergenzien oder Bleichmittel verwenden).
- Das Auslassen einer Probe oder die Zugabe einer ungeeigneten Menge kann unabhängig vom tatsächlichen Status zu einem negativen Testergebnis führen.

Probenahme

Die Proben aseptisch in trockenen Röhrchen sammeln. Es sind mindestens 25 µl Serum erforderlich. Die Proben bis zur Verarbeitung bei 2-8 °C aufbewahren. Wenn sie gelagert werden müssen, die Proben bei -20 ± 5 °C einfrieren. Keine kontaminierten Proben verwenden. Die Proben dürfen nicht wiederholt eingefroren und aufgetaut werden.

Vorbereitung der Reagenzien

Waschpuffer: Für 4 Tests in einer sauberen Flasche müssen 10 ml Waschkonzentrat 10X **(R6)** in 90 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnt werden.

Testverfahren

Anmerkung: Es wird die Durchführung von Multiparameterserien empfohlen (siehe Immunoblot-Bandbreite von LDBIO), um die Anzahl geöffneter Fläschchen zu begrenzen und eine bessere Qualitätskontrolle zu erreichen.

1. Für die Proben und C+ positiven Kontrollen muss ein Aufteilungsplan erstellt werden **(R10)**.
   Nur durch Anwendung dieser Kontrolle kann der Test technisch validiert und eine Identifikation der spezifischen entwickelten Banden für eine bestimmte Seriennummer festgestellt werden. Ein C+ Streifen kann nicht verwendet werden, um die Ergebnisse von Streifen eines Blots einer anderen Seriennummer zu interpretieren.

2. Mit einem Skalpell und einem sauberen und trockenen, flachen, transparenten Lineal die erforderliche Anzahl Streifen (R1) zurechtschneiden, wobei die blaue Positionierungslinie auf den Streifen erhalten bleibt: die Streifen mit dem Lineal festhalten und auf der Seite mit dem Stamm schneiden (die Nummern sind durch das Lineal zu sehen).

3. 1,2 ml des Probenpuffers (R2) gemäß dem erstellten Plan in jeden Kanal verteilen.

4. Die nummerierten Streifen in numerischer Reihenfolge in den Kanälen platzieren: Lassen Sie die Streifen an der Oberfläche des Puffers etwa 2 Minuten rehydrieren, so dass die Markierung nach oben zeigt. Danach die Schale leicht schütteln, damit die Streifen vollständig in den Puffer einzutauchen.

5. Proben und positive Kontrolle(n) verteilen: gemäß Aufteilungsplan mit 25 µl pro Kanal. Die Wanne nach jeder Dosierung leicht schütteln. Die Wanne auf einen Wippschüttler stellen. **Für 90 Min.** ± 5 Min. bei 18-25 °C inkubieren.

6. Waschschritt: Den Inhalt des Kanals mit einer Pasteurpipette oder durch Umdrehen der Inkubationswanne entleeren. 2 bis 3 ml verdünnten Waschpuffer in jeden Kanal geben. Auf dem Wippschüttler für 3 Min. inkubieren. Zweimal wiederholen, dann den Inhalt der Kanäle entleeren. Sicherstellen, dass sich die Streifen während dieser Schritte nicht umdrehen.

7. 1,2 ml eines Anti-IgG-Konjugats (R3) in jeden Kanal geben. Die Wanne auf den Wippschüttler stellen.
   Für 60 Min. ± 5 Min. bei 18-25 °C inkubieren.

8. Waschschritt: Schritt 6 wiederholen.

9. 1,2 ml NBT/BCIP-Substrat (R5) in jeden der Kanäle geben. Auf den Wippschüttler stellen und vor direkter Lichteinstrahlung schützen. **Für 60 Min.** ± 5 Min. bei 18-25 °C inkubieren.

Unabhängig vom Parameter die Farbentwicklung überwachen. Die Entwicklung kann beendet werden, wenn die Hintergrundfarbe des Streifens so dunkel wird, dass Ablesen schwierig wird (die Qualität der Waschschritte hat einen grundlegenden Einfluss auf die Einfärbung des Hintergrunds). Es muss beachtet werden, dass die Streifen beim Trocknen heller werden.

10. Die Reaktion wird durch Absaugen des Substrats mit einer Pasteurpipette oder Umdrehen der

Inkubationswanne und Hinzufügen von 2 ml destillierten Wassers in die Kanäle gestoppt. Dieser letzte Waschschritt wird noch einmal wiederholt.

11. Trocknen der Streifen: Während die Kanäle noch mit Wasser gefüllt sind, werden die Streifen mit der Pinzette am nummerierten Ende herausgenommen und so, dass die Nummer sichtbar ist, auf Whatman Saugpapier gelegt. An der Luft trocknen lassen. Die Farbe der Streifen wird beim Trocknen natürlicherweise heller. Die Auswertung darf erst stattfinden, wenn die Trocknung abgeschlossen ist.

12. Lagerung: Die Streifen auf ein Blatt Papier legen, auf dem sie archiviert werden. Die Positionslinien ausrichten. Die Streifen werden mit dem flachen Lineal fixiert und oben an den Streifen transparentes Klebeband angebracht.

Für eine gute Auswertung müssen die Streifen nach Transfer und in ihrer numerischen Reihenfolge mit einem maximalen Abstand von ein paar Millimetern angeordnet sein. Der Vergleich von Streifen mit großem Abstand (z. B. Nr. 2 mit Nr. 15) ist unzuverlässig. **Es ist gefährlich** (aufgrund falscher Ergebnisse), Streifen aus verschiedenen Kits (mit verschiedenen Seriennummern) miteinander zu vergleichen.

Qualitätskontrolle und Auswertung

Die im Kit vorhandene Serumkontrolle (R10) muss systematisch in alle Immunoblotserien integriert werden. Sie zeigt das typische Profil und ermöglicht die technische Validierung einer guten Testdurchführung (di Banden müssen auf dem Streifen sehr deutlich erscheinen) und die präzise Kalibrierung der Position und Aspekte der spezifischen Banden für die Auswertung der Ergebnisse von Streifen desselben Transfers (gleiche Seriennummer).

- ## Beschreibung der Banden:

- Die Auswertungsbereich befindet sich in der unteren Hälfte des Streifens, zwischen 7 und 26-28 kDa. Das 26-28 kDa Band wird so bezeichnet, weil es verschiedene Aspekte aufweisen kann: einfaches dünnes Band (bei 26 oder 28 kDa), Doppelband (26 und 28 kDa) oder breites Band, das den gesamten Bereich von 26 bis 28 kDa abdeckt.

- Die Banden der Endbereiche bei 7 und 26-28 kDa werden zur Diagnose der Gattung *Echinococcus* eingesetzt (siehe unten: § Auswertung I).

- Die Banden des mittleren Bereichs, die zwischen 7 und 26-28 kDa liegen, werden, falls vorhanden, zur Diagnose der Art, *granulosus* oder *multilocularis* eingesetzt (siehe unten: § Auswertung II)

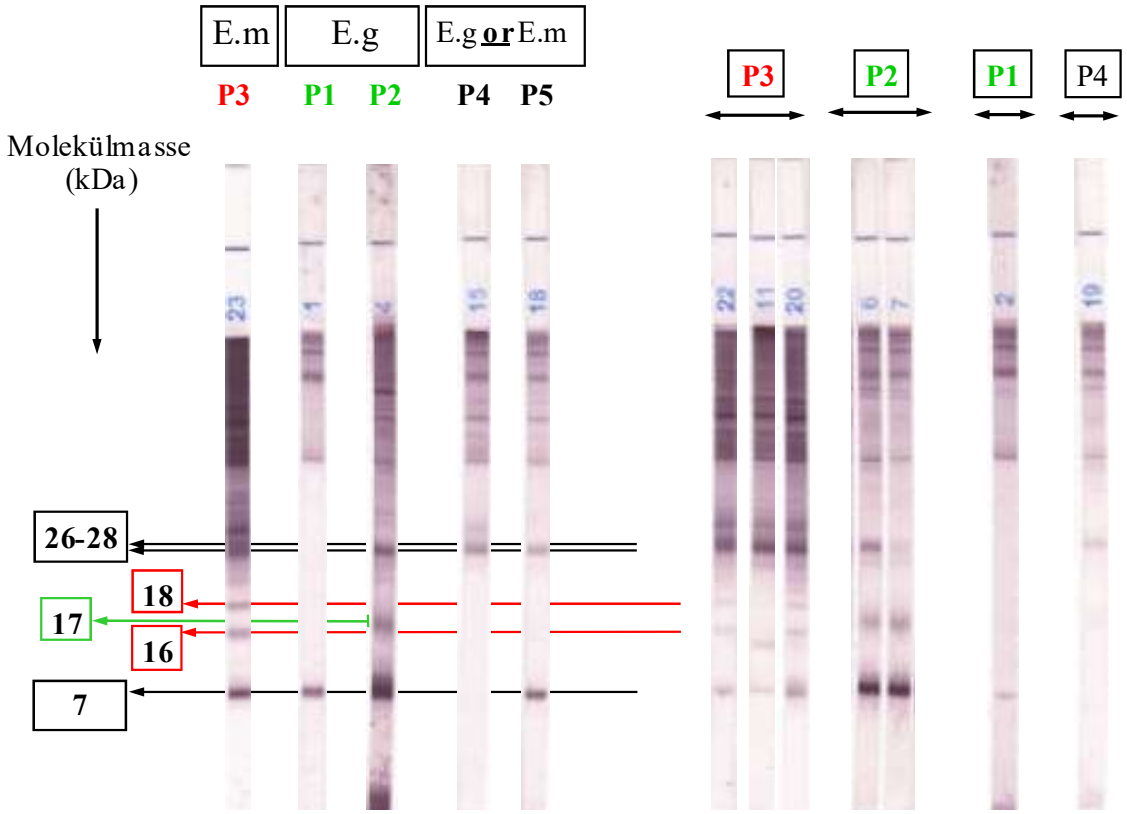

Abb. 1: Beispiele positiver und negativer Ergebnisse

- Auswertung:

> ➢ Diagnose der Gattung:
> - Vorhandensein der Banden in den Endbereichen 7 und/oder 26-28 kDa
>
> ➢ Diagnose der Art:
> - Profile P1 oder P2: *Echinococcus granulosus* (*E.g*)
> - Profil P3: *Echinococcus multilocularis* (*E.m*)
> - Profile P4 oder P5 : *E. multilocularis* oder *E. granulosus*

Auswertung I
Diagnose der Gattung *Echinococcus*:

Überprüfen des Vorhandenseins von 7 und / oder 26-28 kDa Banden auf jeder getesteten Probe mithilfe der oben beschriebenen Kalibrierungsinstrumente. (Diese Banden sind charakteristisch und normalerweise sehr leicht auffindbar.)

Das Vorhandensein von Banden in den Endbereichen 7 und/oder 26-28 kDa ist zwingend erforderlich, damit der Test als positiv betrachtet und auf das Vorhandensein von Anti- *Echinococcus IgG-Antikörper* in der getesteten Probe geschlossen werden kann.

Auswertung II
Differentialdiagnose der Art
E. multilocularis versus *E. granulosus*:

Sie erfolgt durch die Suche nach spezifischen Banden sowohl der einen als auch der anderen Art im mittleren Bereich zwischen 7 und 26 kDa.
· Banden, die beide Arten gemeinsam haben: 12, 15, 20, 24, kDa
·Dünne Banden, die nur bei *E. multilocularis vorgefunden werden*: 16, 17, 18, kDa
· Ein Band, das ausschließlich bei *E. granulosus* vorgefunden wird: ein breites unscharfes Band bei 17 kDa.

5 verschiedene Profile können vorgefunden werden.

- Die Profile P1, P2 und P3 (in 70 % der Fälle vorgefunden) ermöglichen die Diagnose der Art:

PROFIL P1:	*Echinococcus granulosus*
Ausschließlich ein isoliertes Band bei 7 kDa.	
PROFIL P2:	*Echinococcus granulosus*
Band bei 7 kDa + breites unscharfes Band bei 17 kDa. (Anmerkung: Das 26-28 kDa Band ist meistens ebenfalls vorhanden.)	
PROFIL P3:	*Echinococcus multilocularis*
26-28 kDa Band + dünne 16 und / oder 18 kDa Banden. (Anmerkung: Die meisten anderen Banden bei 7, 12, 15, 17, 20, 24 kDa sind sehr häufig ebenfalls vorhanden.)	

- Bei den 2 letzten Profilen P4 und P5 (in 30 % der Fälle vorgefunden) können die 2 Arten *E. granulosus und E. multilocularis nicht unterschieden werden.*

Profil P4:	
Ausschließlich ein isoliertes 26-28 kDa Band.	Ein Band im mittleren Bereich ist NICHT VORHANDEN.
Profil P5:	
Gleichzeitiges Vorhandensein der Banden 7 + 26-28 kDa.	Ein Band im mittleren Bereich ist NICHT VORHANDEN.

Anmerkung 1: Das isolierte Vorhandensein eines oder mehrerer Banden im mittleren Bereich (12, 15, 16, 17, 18, 20, 24 kDa) kann nicht als spezifisch eingestuft werden. Bei Vorliegen einer Echinokokkose werden diese Banden nie isoliert vorgefunden, sondern immer in Verbindung mit dem 7 kDa und / oder dem 26-28 kDa Band.

Anmerkung 2: Banden oberhalb und gelegentlich auch unterhalb des 7-28 kDa Bereichs werden sehr häufig vorgefunden. Sie dürfen nicht zur Auswertung des Tests verwendet werden.

Anmerkung 3: In einem Ausnahmefall erschien das 16 kDa Band bei einem mit *E. multiocularis* infizierten Patienten breiter als gewöhnlich. Achten Sie darauf, dieses Band nicht mit dem breiten

spezifischen 17 kDa Band von *E. granulosus* zu verwechseln.

Anmerkung 4: Die Banden in den mittleren Bereichen erscheinen weniger intensiv als die Banden in den Bereichen 7 und 26-28 kDa. Ihre korrekte Entwicklung erfordert häufig eine Inkubation im Substrat von 60 Minuten. Unterbrechen Sie diese nicht vorzeitig.

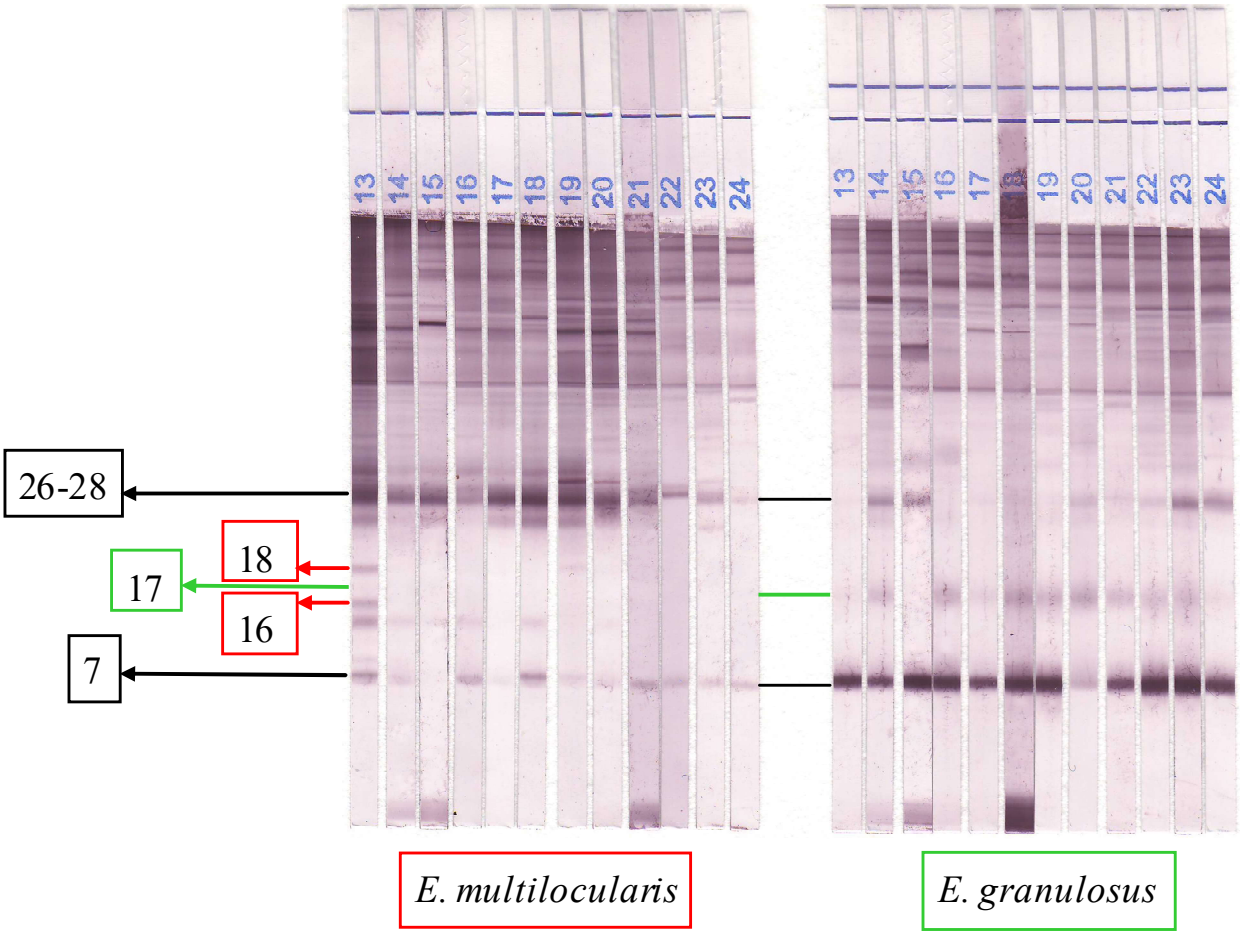

Abb. 2: Ergänzende Beispiele positiver Proben aus dem Immunoblot-Testverfahren, die von Patienten stammen, die mit *E. multilocularis* und *E. granulosus* infiziert sind.

Diese Proben wurden speziell ausgewählt, um <u>schwache positive Ergebnisse</u> zu zeigen: Alle *E.m* Profile sind unvollständig (mit Ausnahme des ersten Streifens Nr. 13).

Es ist interessant, die Gegensätzlichkeit der Profile festzustellen, die üblicherweise für jede Art vorgefunden werden:

E. multilocularis: Das 26-28 kDa Band erscheint häufig in Form eines Doppelbandes und weist die stärkste Intensität auf.

E. granulosus: Im Gegensatz dazu erscheint hier das 7 kDa Band am intensivsten.

<u>Aber diese Regel gilt nicht absolut</u> (Bsp.: Band *E. m.* Nr. 24 ; *E. g.* Nr. 20)

Zur Validierung der Ergebnisse muss immer das Profil des Immunoblots jeder Probe mit dem der positiven Kontrolle R10 verglichen werden. Die Aspekte der Banden sind für die Auswertung des Tests wichtig.

Anwendungsbeschränkungen

Die Diagnose einer Infektionskrankheit kann nicht anhand eines einzigen Testergebnisses gestellt werden.
Serologische Ergebnisse müssen gemäß den verfügbaren Informationen (z. B. Epidemiologie, klinische, Bildgebung, Biologie usw.) interpretiert werden, um eine Diagnose zu erstellen.

Leistung

- Sensitivität (Se):

Eine multizentrische Studie [9], die in zwei unabhängigen spezialisierten Laboren durchgeführt wurde und 111 Serumproben von Patienten untersuchte (50 Hydatidose-Fälle und 61 Fälle von alveolärer Echinokokkose, die jeweils eindeutig nachgewiesen waren), lieferte folgende Ergebnisse:

	ECHINOCOCCUS WB IgG: ermittelte Profile					
	Neg	P1	P2	P3	P4	P5
Hydatidose (n=50)	1	12	22	0	1	14
alveolärer Echinokokkose (n=61)	2	0	0	41	7	11
gesamt (n=111)	3	12	22	41	8	25

Tabelle 1: *Testsensitivität und ermittelte Profile*

Testsensitivität: Se = 97,3 % in Bezug auf die Gattung *Echinococcus*
Se = 98 % in Bezug auf die Art *E. granulosus*
Se = 96,7 % in Bezug auf die Art *E. multilocularis*

Diagnose der Art: *E. multilocularis versus E. granulosus*
Aus der Tabelle 1 oben ergibt sich eine Unterscheidungskraft zwischen den beiden Arten von **67, 6 %** (Profile P1+ P2 + P3).

- Spezifität - Kreuzreaktionen:

147 Serumproben von 147 Patienten wurden mit dem ECHINOCOCCUS WB IgG Kit von den beiden oben erwähnten Laboren geprüft.
Das Prüfverfahren umfasste Serumproben von Patienten, die von folgenden Symptomen betroffen waren: Neurozystizerkose T*aenia solium* (42), *Schistosomiasis* (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), Autoimmunerkrankungen: Rheumafaktor RF (8), Antinukleäre Antikörper ANA (12).

139 Serumproben sind negativ, was eine Spezifität von 95 % bei dieser Population beweist.

Die 8 Kreuzreaktionen wurden ausschließlich im Rahmen folgender Erkrankungen beobachtet:
- Zystizerkose: Vorhandensein eines isolierten Bandes bei 7 kDa bei 5 von 42 Patienten.

- Autoimmunerkrankungen: Vorhandensein eines dünnen isolierten Bandes bei 28 kDa bei 1 von 8 Patienten (RF+) und 2 von 12 ANA-positiven Patienten.

Anmerkung: Fasziolose: Das Vorhandensein eines isolierten sehr breiten Bandes (25-30 kDa) wurde bei 4 von 10 untersuchten Patienten festgestellt, es darf jedoch nicht mit dem spezifischen Band 26-28 verwechselt werden.

- Reproduzierbarkeit:

Es wurde die Reproduzierbarkeit zwischen Serien und Chargen geprüft. In beiden Fällen ist die Korrelation hinsichtlich der spezifischen Banden zwischen Sera sehr gut.

- Beeinträchtigung:

Obwohl keine besondere Kreuzreaktion mit hämolysierten, ikterischen oder lipidischen Sera beobachtet wurde, wird empfohlen, die Ergebnisse der Verwendung solcher Proben aufmerksam zu beobachten.

Fehlerbehebung

*„**Die Banden sind blass und weisen kaum Kontrast auf**“:* Bestimmte Sera mit niedrigen Konzentrationen von Antikörpern können solche Ergebnisse zeigen.

*„**Es sind schattierte Bereiche sichtbar, mehr oder weniger farbig, leicht diffus**“:* Der Streifen wurde in eins der Reagenzien nicht vollständig eingetaucht und wurde nicht über seine gesamte Länge korrekt inkubiert. Es können auch Flecken an den Stellen vorhanden sein, an denen die Probe platziert wurde, wenn die Wanne anschließend nicht geschüttelt wurde.

*„**Der Hintergrund ist dominant, wodurch das Ablesen sehr schwer wird**“:* Die Waschungen waren unzureichend oder die letzte Inkubation zu lang. Gute Techniken zur Testleistung sicherstellen, die Waschzeiten einhalten und die Wasserqualität sicherstellen. Die Zeit der letzten Inkubation reduzieren. In Ausnahmefällen können bestimmte Sera unspezifisch reagieren. Dann ist das Ergebnis des Immunoblots unbrauchbar.
Dieser unspezifische, dominante Hintergrund kann nur einen Teil des Streifens betreffen und somit können nur hier die Ergebnisse nicht ausgewertet werden.

*„**Während des letzten Entwicklungsschritts erscheint eine Ausfällung in der Lösung**“:* das Substrat kann tatsächlich zum Ende der Entwicklung im Puffer teilweise ausfällen (schwarze Flocken). Dieses Phänomen verändert die Qualität der Entwicklung nicht, die normal fortgesetzt werden sollte. Die letzte Waschung mit destilliertem Wasser entfernt möglicherweise vorhandene feste Partikel.

Literaturverzeichnis

Atanasov, Georgi, Christoph Benckert, Armin Thelen, Dennis Tappe, Matthias Frosch, Dieter Teichmann, Thomas F. E. Barth, Christian Wittekind, Stefan Schubert, et Sven Jonas. 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, Herbert. 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, Jean-Mathieu, Martine Piarroux, Yasuhito Sako, Fréderic Grenouillet, Solange Bresson-Hadni, Renaud Piarroux, et Akira Ito. 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, Enrico, Peter Kern, Dominique Angèle Vuitton, 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, Koji, Masanori Kawanaka, Kimiaki Yamano, Naoki Sato, et Hiroshi Honma. 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, V Janin, S Bresson-Hadni, D A Vuitton, R Houin, et R Piarroux. 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, Jernej, Barbara Soba, et Tadeja Kotar. 2008. « Serological evidence for human cystic echinococcosis in Slovenia ». *BMC infectious diseases* 8: 63. doi:10.1186/1471-2334-8-63.

Logar, J, B Soba, T Lejko-Zupanc, et T Kotar. 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., L. Hachicha, F. Mseddi, H. Hammami, F. Cheikhrouhou, H. Sellami, A. Sellami, 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, Domenico, et Mark L. Eberhard. 2011. « Zoonotic Helminths Affecting the Human Eye ». *Parasites & Vectors* 4: 41. doi:10.1186/1756-3305-4-41.

Reiter-Owona, Ingrid, Beate Grüner, Matthias Frosch, Achim Hoerauf, Peter Kern, et Dennis Tappe. 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, Francesca, Enrico Brunetti, Andreas Neumayr, Marcello Maestri, Samuel Goblirsch, et Francesca Tamarozzi. 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.

Tappe, Dennis, Beate Grüner, Peter Kern, et Matthias Frosch. 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, Kimiaki, Kinpei Yagi, Koji Furuya, Yukiharu Sawada, Hiroshi Honma, et Naoki Sato. 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., I. Achir, M. K. Guerchani, et B. Hamrioui. 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.

LDBIO Diagnostics
NF EN ISO 13485
19A rue Louis Loucheur - 69009 LYON - FRANCE
TEL : +33(0)4 7883 3487 - FAX : +33(0)4 7883 3430
www.ldbiodiagnostics.com - email : contact@ldbiodiag.com