

Gebruiksaanwijzing



BIOSORB® ABSORPTIE REAGENS

I. Isolatie van IgM en IgA middels scheiding van IgG met gebruik van anti-humaan IgG antiserum geschikt voor alle IgM en IgA bepalingen:

Biosorb® IgG Absorptiereagens, 48 scheidingen, Art.nr. 90-1048

Biosorb® IgG Absorptiereagens, 120 scheidingen, Art.nr. 90-1120

II. Scheiding van groepsspecifieke antilichamen tegen spirocheten met gebruik van Treponema phagedenis homogenaat geschikt voor Borrelia en Leptospira IgG bepalingen:

Biosorb® Reiter Absorptiereagens, Art.nr. 36-6105

HET DOEL VAN DE TEST

De Biosorb® Absorptiereagentia verwijderen immunoglobulinen die de bepalingen van IgM of IgA storen of problemen geven met de bepalingen van antilichamen tegen spirocheten in humaan serum. Ze zijn alleen bestemd voor in vitro diagnostiek.

INLEIDING

Isolatie van IgM en IgA

Het direct testen van serum op IgM of IgA activiteit heeft verscheidene nadelen indien er ook pathogeen specifiek IgG aanwezig is. Dit is voornamelijk het geval als de concentraties van antigeen specifiek IgM en IgA laag zijn in vergelijking tot het antigeen specifieke IgG. Het IgG kan competitie aangaan met IgM en IgA met betrekking tot de bindingsplaatsen op het antigeen (sterische hinder). Dit kan leiden tot vermindering of remming van IgM/IgA binding en zo tot vals negatieve resultaten. Aan de andere kant kan de aanwezigheid van IgM reumafactoren in het serum leiden tot vals positieve resultaten in IgM bepalingen. IgM reumafactor is een IgM antilichaam gericht tegen IgG antilichamen (in immuuncomplexen). Als specifiek IgG aan het antigeen is gebonden, dan kan IgM reumafactor binden aan het "geactiveerde" IgG en herkend worden door het specifieke IgM conjugaat. Overeenkomstig kunnen IgA reumafactoren IgA bepalingen beïnvloeden.

Om deze problemen uit te schakelen moet IgG verwijderd worden uit het monster. Het resterende IgM en/of IgA wordt dan getest op specificiteit tegen ziekteverwekkers. Het behandelen van de monsters met anti-humaan IgG antiserum (**Biosorb® IgG Absorptiereagenst Art.nr. 90-1048 en 90-1120**) zorgt voor een eenvoudige, snelle en efficiënte methode. Van humane IgG moleculen worden stabiele immuuncomplexen gemaakt (het is niet nodig om te centrifugeren om deze immuuncomplexen te verwijderen) die niet langer de IgM/IgA bindingsplaatsen blokkeren. Hierdoor wordt dus vals negatieve resultaten voorkomen. Indirect zal de aanwezigheid van reumafactoren niet meer leiden tot vals positieve resultaten.

Spirocheten serologie

Spirocheten serologie (*Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira interrogans*) is gecompliceerd. Sera van patiënten die geïnfecteerd zijn met een van deze ziekteverwekkers of die alleen maar contact hebben gehad met een niet-pathogeen lid van de betreffende spirocheten familie laten vaak kruisreacties zien (ook met hoge titers) als het getest wordt op een kruisreagerend antigeen van de spirochetengroep. Klaarblijkelijk wekken de kruisreagerende (normaal) spirocheet antigenen (epitopen) een sterke immuunrespons op, met andere woorden, vaak worden er antilichamen aangemaakt specifiek gericht tegen deze antigenen/epitopen. Het typeren van de betreffende ziekteverwekker alleen middels serologie is moeilijk tot onmogelijk.

Om de specificiteit van de serologische testen op spirocheet antilichamen te verhogen moeten de monsters voorbehandeld worden met absorptiereagens (**Biosorb® Reiter Absorptiereagens Art.nr. 36-6105**) waarmee in hoge mate kruisreagerende antilichamen verwijderd worden. Door deze methode neemt de sensitiviteit van de spirocheet antilichaam testen echter af. Door de serumbehandeling met Reiter spirocheten zullen de titers van de specifieke antilichamen wat lager uitvallen.

INHOUD EN PRINCIPE VAN DE TEST

Biosorb® IgG Absorptiereagens:

Een op anti-humaan IgG gebaseerd systeem: de serumverdunding na de behandeling is 1:5. Geschikt voor alle IgG/IgM of IgG/IgA scheidingen voor alle methodieken (IFT, Elisa, Blot enz.)

Art.nr. 90-1048: voor 48 patiëntenmonsters (scheidingen), klaar voor gebruik; 2 ml.

Art.nr. 90-1120: voor 120 patiëntenmonsters (scheidingen), klaar voor gebruik; 5 ml.

Door de patiëntenmonsters te behandelen met Biosorb® reagens vindt er complexvorming plaats tussen IgG moleculen uit het serummonster en anti-IgG antiserum. Deze gecomplexeerde IgG moleculen kunnen de reactiviteit van IgM of IgA in de bepaling niet storen. Na de behandeling van Biosorb® Absorptiereagens kan het serum of direct worden gebruikt of verder verdund met PBS tot de verdunding die nodig is voor de bepaling.

Biosorb® Reiter Absorptiereagens:

Art.nr. 36-6105: Een op *Treponema phagedenis* homogenaat gebaseerd systeem; klaar voor gebruik; 1 ml.

Na toevoeging van het absorptiereagens is de serumverdunding 1:5.

Door patiëntensera te behandelen met Biosorb® Reiter Absorptiereagens worden de antilichamen die gericht zijn tegen frequent voorkomende gemeenschappelijke antigenen op spirocheten verwijderd. Dit middels ultra sonicatie verkregen *Treponema phagedenis* homogenaat is ook geschikt voor alle IgG bepalingen in de spirocheten serologie onafhankelijk van de methodiek (IFT, Elisa, blot enz.) of producent (*Borrelia* familie, FTA-ABS, *Leptospira* familie).

BENODIGDE HULPMIDDELEN (NIET BIJ DE TESTKIT INBEGREPEN)

Geschikte buizen om de absorptie uit te voeren

Precisiepipetten en pipettips met een volume van 1 - 1000 µl

Vortex mengapparaat

PBS buffer

Kookwekkertje

Bios®, Biosite®, Biognost®, Biolisa®, Biosave®, Biosorb®, Biomedix®, Bionostix®, Biostik®, Biochip®, Bioservice®, Biotainer®, Biodata®, Diagnos® und Recipe® sind registrierte Warenzeichen der Firma Bios® GmbH Labordiagnostik, Deutschland.

Die mit ® gekennzeichneten Warenzeichen in diesem Text sind Eigentum der Bios GmbH.

Unsere Gebrauchsinformationen sind geistiges Eigentum der Firma Bios und nur nach unseren Vorgaben zu verwenden.

Bios® GmbH Labordiagnostik, Hofmannstr. 5-7, D-81379 München,

Fon/Fax: +49 89/78020599-0/-40, e-mail: bios@bios-world.com, Biosite® www.bios-world.com

OPSLAG EN HOUDBAARHEID

Bewaar de Absorptiereagentia bij 5-10°C. De Absorptiereagentia zijn stabiel tot aan de aangegeven houdbaarheidsdatum mits de aanbevelingen strikt worden opgevolgd. Gebruik de absorptiereagentia niet na de houdbaarheidsdatum.

VEILIGHEID VOORZORGSMATREGELEN

1. De Absorptiereagentia zijn alleen bestemd voor in vitro diagnostisch gebruik.
2. Absorptiereagentia bevatten 0.09% natriumazide. Natriumazide is giftig. Slik het niet door en vermijd elk contact met de huid en slijmvliezen. Azide bevattende reagentia mogen niet in contact gebracht worden met koper- of loodhoudende voorwerpen, bijvoorbeeld bepaalde afvoerpijpen, omdat dit kan leiden tot de vorming van explosieve metaalazides.
3. De veiligheidsbepalingen van de daarvoor ingestelde diensten en van het eigen instituut (laboratorium) dienen strikt te worden opgevolgd (zoals bulletins, laboratorium richtlijnen, veiligheidsinstructies enz.).
4. De huidige Goede Laboratorium Praktijk regels (GLP richtlijnen) moeten altijd worden opgevolgd.
5. Middelen en reagentia die gebruikt zijn voor de test dienen als afval verwerkt te worden overeenkomstig de van toepassing zijnde wettelijke voorschriften.

TESTMATERIAAL

Zowel serum en plasma zijn geschikt voor de test. Serum- en plasmamonsters zijn stabiel gedurende 1 week bij 5-10°C. Indien opslag of herhaald testen van de monsters is vereist gedurende een langere periode dan dienen de monsters te worden uitverdeeld in kleine hoeveelheden (50 µl), snel te worden ingevroren in vloeibare stikstof en opgeslagen bij of lager dan -20°C. Het herhaald invriezen en ontdooien van grotere hoeveelheden sera dient te worden voorkomen omdat dit eiwitaggregatie en aantasting van bepaalde serum- en plasmabestanddelen kan veroorzaken. Serum- en plasmamonsters mogen geconserveerd worden met 0.09% natriumazide mits dit de test niet beïnvloedt (azide beïnvloedt bv de op peroxidase gebaseerde Elisa's). Deze monsters kunnen gedurende een langere periode (tot 1 jaar) worden opgeslagen bij 5-10°C zonder dat het testresultaat terugloopt.

KWALITEITSCONTROLE EN PROBLEEMOPLOSSING

Forceer nooit het op kamertemperatuur laten komen van reagentia door deze op te warmen. Door sera te behandelen met Reiter Absorptie reagens worden kruisreagerende antilichamen verwijderd (antilichamen tegen soortspecifieke antigenen of spirocheten). Door deze procedure neemt de specificiteit van de test toe maar de sensitiviteit neemt echter af. Hier moet rekening mee worden gehouden wanneer resultaten van geabsorbeerde sera vergeleken worden met die van niet- geabsorbeerde sera. Voor het vaststellen van de eindverdunding van het serum die nodig is voor de bepaling moet de verdunding die nodig was voor de absorptie worden meegecalculeerd.

De sensitiviteit en specificiteit van de bepaling worden voortdurend gecontroleerd in het Bios® controle laboratorium teneinde een consistent testresultaat te waarborgen. Bios® betreft alle beschikbare serum en controle standaarden van de WHO of andere officiële instanties voor teststandaardisatie. De door Biognost® geleverde positieve en negatieve controles zijn geïjkt volgens de beschikbare standaarden of sera van patiënten met klinisch specifieke kenmerken of donoren.

ABSORPTIEPROCEDURE

Laat voor de absorptietest alle reagentia en sera op kamertemperatuur komen.

Het gebruik van Biosorb® IgG Absorptiereagens voor het verwijderen van IgG in IgM of IgA bepalingen:

1. Verdun het patiëntenserum 1:5 met Biosorb® Absorptiereagens (bv. meng 10 µl serum met 40 µl Biosorb® Absorptiereagens). Het mengsel voorzichtig mengen op een vortex.
2. Incubeer het mengsel gedurende 10 - 15 min. bij kamertemperatuur.
3. Na de incubatie kan het mengsel (IgM/IgA fractie, serumverdunding 1:5) onmiddellijk gebruikt worden voor de IgM/IgA bepaling of met PBS worden verdund tot de benodigde eindverdunding. Het is niet nodig om te centrifugeren.
4. Voeg geen Biosorb® Absorptiereagens toe aan Bios positieve IgM/IgA controles. Onze positieve controles zijn al voldoende voorbehandeld op ons laboratorium.
5. Bij het vaststellen van de eindverdunding van het serum moet rekening worden gehouden met de voorverdunding van het patiëntenmonster door de absorptiestap.

Het gebruik van Biosorb® Reiter Absorptiereagens voor de absorptie van soortspecifieke antilichamen tegen spirocheten in IgG bepalingen:

1. Verdun het patiëntenserum 1:5 met Biosorb® Reiter Absorptiereagens (bv. meng 10 µl serum met 40 µl Biosorb® Absorptiereagens).
2. Het mengsel voorzichtig mengen op een vortex.
3. Incubeer het mengsel gedurende 10 - 15 min. bij kamertemperatuur.
4. Na de incubatie (serumverdunding 1:5) kan het mengsel onmiddellijk gebruikt worden voor de bepaling of met PBS worden verdund tot de benodigde eindverdunding. Het is niet nodig om de immunocomplexen te verwijderen middels centrifugeren.
5. Voeg geen Biosorb® Reiter Absorptiereagens toe aan Bios positieve spirocheten controles. Onze positieve controles zijn al voldoende voorbehandeld op ons laboratorium.
6. Bij het vaststellen van de eindverdunding van het serum moet rekening worden gehouden met de voorverdunding van het patiëntenmonster door de absorptiestap.

Indien de IgG/IgM, IgA scheiding middels Biosorb® IgG Absorptiereagens wordt uitgevoerd voorafgaand aan de absorptie (van de IgM/IgA fractie) met het Reiter absorptie reagens, dan is er minder Biosorb® Reiter Absorptiereagens nodig (bv. 1 deel IgM fractie en 1 deel Reiter Absorptiereagens). De totale antilichaamconcentratie in het monster is immers al verminderd door de eerste absorptiestap. De monsterverdunding na de beide absorptiestappen (1:5 en 1:2) is **1:10**.

REFERENTIES

1. Feldner J.: RF-Absorbens: IgM-Antikörperbestimmung ohne Rheumafaktor-Interferenz. Lab.med. 14, 1990, 283-288
2. Hunter E.F., Deacon W.E., Meyer P.F.: An Improved Test for Syphilis, the Absorption Procedure (FTA-ABS). Publ. Health Rep. 79, 1964, 410-412

Bios®, Biosite®, Biognost®, Biolisa®, Biosave®, Biosorb®, Biomedix®, Bionostix®, Biostik®, Biochip®, Bioservice®, Biotainer®, Biodata®, Diagnos® und Recipe® sind registrierte Warenzeichen der Firma Bios® GmbH Labordiagnostik, Deutschland.

Die mit ® gekennzeichneten Warenzeichen in diesem Text sind Eigentum der Bios GmbH.

Unsere Gebrauchsinformationen sind geistiges Eigentum der Firma Bios und nur nach unseren Vorgaben zu verwenden.

Bios® GmbH Labordiagnostik, Hofmannstr. 5-7, D-81379 München,

Fon/Fax: +49 89/78020599-0/-40, e-mail: bios@bios-world.com, Biosite® www.bios-world.com