

Istruzioni per l'uso

CE

BIOSORB® ADSORBENTI

I. Isolamento degli anticorpi di classe IgM e IgA dagli anticorpi di classe IgG mediante antisiero anti-umano, adatto per tutte le determinazioni IgM e IgA:

Biosorb® IgG Absorbent, 48 separazioni, Cat.No. 90-1048

Biosorb® IgG Absorbent, 120 separazioni, Cat.No. 90-1120

II. Separazione del gruppo d'anticorpi specifici verso le spirochete con *Treponema phagedenis*, adatto per le determinazioni di *Borrelia* e *Leptospira* IgG:

Biosorb® Reiter Absorbent, Cat.No. 36-6105

FINALITÀ D'USO

Gli adsorbenti Biosorb® rimuovono le immunoglobuline che interferiscono nelle determinazioni degli anticorpi IgM, IgA o spirochetosici nel siero umano. Realizzati quale ausilio per la diagnostica in vitro.

PREMESSA

Isolamento delle IgM e IgA

Determinare direttamente nel siero l'attività di IgM o IgA presenta degli inconvenienti se in presenza di IgG specifiche; questo sarà tanto più evidente se le concentrazioni di antigene specifico IgM o IgA sono basse in rapporto a quello delle IgG. Le IgG possono interferire con l'interazione dell'antigene IgM e IgA per competizione ai siti di legame sull'antigene; ne deriva una riduzione od inibizione dei legami di IgM o IgA con risultati falsamente negativi. D'altro canto, nelle determinazioni IgM il fattore reumatoide presente nel siero potrà causare falsi positivi. Il fattore reumatoide IgM è un'autoanticorpo diretto contro gli anticorpi IgG (in immuno-complessi). Se le IgG specifiche sono legate all'antigene del fattore reumatoide IgM possono legarsi alle IgG "attivate" quindi essere rivelate da un coniugato specifico IgM. Per analogia le IgA da fattore reumatoide possono interferire nelle determinazioni di IgA. Il trattamento dei campioni con antisiero anti-umano IgG (**Biosorb® IgG Absorbent Cat.No. 90-1048 e 90-1120**) è un metodo semplice, rapido ed efficace. Le molecole umane IgG si legano in immuno-complessi stabili (non richiede centrifugazione) che non potranno bloccare i siti antigenici leganti evitando risultati falsamente negativi. Indirettamente anche il fattore reumatoide presente non potrà causare falsi positivi.

Sierologia delle spirochete

La sierologia spirochetosica (*Treponema pallidum*., *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira interrogans*) è complessa. I sieri dei pazienti infettati da uno di questi patogeni, o comunque venuti in contatto con membri della famiglia delle spirochete, mostrano spesso reazioni crociate (anche di alto titolo) quando analizzati con un antigene eterologo derivante dal gruppo delle spirochete. Ovviamente gli antigeni spirochetosici (epitopi) che hanno reazioni crociate sono fortemente immunogeni; es.: si formano degli anticorpi specifici contro antigeni/epitopi. La differenziazione della patologia, solo per via sierologica, non è impossibile ma comunque molto difficoltosa. Il campione del paziente dovrebbe essere pretrattato con adsorbente (**Biosorb® Reiter Absorbent Cat.No. 36-6105**) per aumentare la specificità dei test sierologici su anticorpi spirochetosici. I titoli degli anticorpi specifici saranno leggermente attenuati dal trattamento suddetto.

CONTENUTO E PRINCIPIO DELL'ANALISI

Biosorb® IgG Absorbent:

Basato su IgG anti-umane: diluizione dopo il trattamento 1:5. Adatto per separazioni di IgG/IgM o IgG/IgA per tutti i metodi (IFA, Elisa, Blot etc.)

Cat.No. 90-1048: 48 separazioni.; 2 ml, pronto all'uso.

Cat.No. 90-1120: 120 separazioni.; 5 ml, pronto all'uso.

Nel pretrattamento del siero con Biosorb® le molecole umane IgG formeranno un complesso con l'antisiero anti-IgG; così bloccate non inficeranno la reattività IgM ed IgA nelle analisi. Per ottenere la diluizione finale d'analisi diluire il pretrattato con PBS oppure usarlo tal quale.

Biosorb® Reiter Absorbent:

Cat.No. 36-6105: Separazione del gruppo d'anticorpi specifici verso le spirochete con *Treponema phagedenis*: pronto all'uso; 1 ml. Diluizione dopo il trattamento 1:5.

Il pretrattamento del siero con Biosorb® Reiter Absorbent, rimuove gli anticorpi diretti ai comuni antigeni spirochetosici. Il trattamento con *Trponema phagedenis* ultrasonificato è utile per tutte le analisi sierologiche IgG delle spirochete (*Borrelia* speci, FTA-ABS, *Leptospira* speci).

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Contenitori appropriati per pretrattamento campioni

Pipette di precisione e puntali per dispensare 1-1000 µl

Agitatore Vortex

Tampone PBS

Cronometro

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare gli adsorbenti alla temperatura specificata in etichetta (5-10°C). Conservati, secondo quanto raccomandato, sono stabili fino alla data di scadenza in etichetta. Non usare alcun componente se scaduto.

PRECAUZIONI PER LA SICUREZZA

1. Gli adsorbenti sono per uso esclusivo di diagnostica in vitro.
2. Gli adsorbenti, contengono 0,09% di sodio azide; la sodio azide è velenosa. Non inalare ed evitare il contatto con la pelle e le mucose. L'azide contenuta nei reattivi non deve essere messa a contatto con oggetti contenenti rame o piombo, es. certe tubazioni di scarico, in quanto può portare alla formazione di azide metallica esplosiva.
3. Seguire e rispettare strettamente le direttive per la sicurezza in laboratorio dei rispettivi istituti (le guide di laboratorio, gli aggiornamenti, le istruzioni di sicurezza etc.).
4. Si raccomanda di seguire le attuali direttive definite da 'GLP' (Good Laboratory Practice).
5. Materiali e reagenti usati nell'analisi devono essere messi a rifiuto/eliminati in accordo con quanto disposto dalla legislazione vigente.

CAMPIONI E TRATTAMENTO

Per l'analisi si può usare siero o plasma. Il siero e il plasma sono stabili per una settimana se conservati a 5-10 °C. Se necessario, per una ripetizione dell'analisi o una più lunga conservazione, i campioni devono essere divisi in aliquote, congelati in azoto liquido e conservati alla temperatura di -20 °C o inferiore. Evitare di sottoporre campioni di siero o plasma a ripetuti cicli di congelamento e scongelamento in quanto questo può causare l'aggregazione delle proteine e la degradazione di alcuni componenti del siero o plasma. I campioni, di siero o plasma, dovrebbero anche essere stabilizzati con azide 0,09% questo trattamento non interferisce con l'analisi (l'azide potrebbe interferire ad esempio in tecniche ELISA basate sulla perossidasi). Questi campioni possono essere conservati a 5-10 °C per lungo tempo (fino ad 1 anno) senza perdita di analiti.

CONTROLLO DI QUALITÀ E RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Non forzare mai il processo di riequilibrio di temperatura degli adsorbenti riscaldandoli. Il trattamento del siero con l'adsorbente Reiter elimina gli anticorpi che creano reazioni crociate. La specificità dell'analisi sarà incrementata dal trattamento ma la sensibilità sarà diminuita; questo dovrà essere oggetto di considerazione nella comparazione di dati ottenuti con o senza adsorbimento. Nella diluizione finale d'analisi si dovrà considerare quella dovuta al pretrattamento. Sensibilità e specificità delle analisi sono sempre tenute sotto controllo dal sistema di qualità Bios® utilizzando sempre sieri e controlli standard provenienti da W.H.O. e altre istituzioni ufficiali. I controlli Biognost® sono tutti calibrati contro standards o provenienti da donatori.

PROCEDURA D'ADSORBIMENTO

Prima di iniziare portare tutti i reagenti da utilizzare a temperatura ambiente (circa 5- 10 minuti).

Applicazione dell'adsorbente Biosorb® IgG Absorbent per la separazione delle IgG dalle IgM o IgA:

1. Diluire il siero del paziente **1:5** con Biosorb® (es.: 10 µl di siero + 40 µl di adsorbente)
2. Agitare con Vortex
3. Incubare a temperatura ambiente per 15 minuti
4. Utilizzare subito per l'analisi IgM o IgA, tal quale o diluito con PBS; la centrifugazione non è necessaria.
5. I controlli Biognost®, se necessario, sono già stati pretrattati e perciò non soggetti ad ulteriore trattamento di separazione o di adsorbimento per le varie classi immunoglobuliniche.
6. Nelle diluizioni seriali tenere in considerazione la prediluizione del siero effettuata nel passaggio di adsorbimento.

Applicazione dell'adsorbente Biosorb® Reiter Absorbent per l'adsorbimento degli anticorpi specifici alle spirochete nelle analisi IgG:

1. Diluire il siero del paziente **1:5** con Biosorb® Reiter (es.: 10 µl di siero + 40 µl di adsorbente)
2. Agitare con Vortex
3. Incubare a temperatura ambiente per 15 minuti
4. Utilizzare subito per l'analisi, tal quale o diluito con PBS; la centrifugazione non è necessaria.
5. I controlli Biognost®, se necessario, sono già stati pretrattati e perciò non soggetti ad ulteriore trattamento di separazione o di adsorbimento per le spirochete.
6. Nelle diluizioni seriali tenere in considerazione la prediluizione del siero effettuata nel passaggio di adsorbimento.

Se i campioni sono già stati pretrattati con Biosorb® IgG prima di essere sottoposti a trattamento con Biosorb® Reiter, si dovrà utilizzare un minore volume dello stesso (es.: un'aliquota del pretrattato IgM + un'aliquota di adsorbente Reiter) la diluizione del campione dopo entrambi i trattamenti sarà **1:10** (1:5 + 1:2).

BIBLIOGRAFIA

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