

Gebrauchsinformation

**BIOSORB® ABSORBENZIE****I. IgM und IgA Isolierung durch Abtrennung von IgG mittels anti-human IgG Antiserum für alle IgM bzw. IgA Nachweise:**

Biosorb® IgG Absorbens, 48 Trennungen, Best.Nr. 90-1048

Biosorb® IgG Absorbens, 120 Trennungen, Best.Nr. 90-1120

II. Abtrennung gruppenspezifischer Spirochäten Antikörper mittels Treponema phagedenis Homogenisat für Borrelien und Leptospiren Antikörper Nachweise:

Biosorb® Reiterabsorbens, Best.Nr. 36-6105

BESTIMMUNGSGEMÄßER GEBRAUCH

Die Biosorb® Absorbentien entfernen Immunglobuline, z.B. solche, die bei IgM und IgA Tests bzw bei Nachweisen von Spirochäten Antikörpern in humanem Serum stören. Die Biosorb® Sorbentien sind ausschließlich für die Verwendung in der in vitro Diagnostik bestimmt.

EINFÜHRUNG**IgM und IgA Isolierung**

Beim Nachweis von spezifischen IgM/IgA Antikörpern kann die gleichzeitige Anwesenheit von IgG stören. Ein Überschuss an IgG Antikörpern kann durch kompetitive Hemmung kombiniert mit sterischer Hinderung die IgM/IgA Bindung an das Antigen verhindern und der Nachweis von IgM oder/und IgA Antikörpern dadurch falsch negativ werden. Dieses ist speziell immer dann der Fall, wenn das IgG gegenüber dem IgM oder dem IgA höherkonzentriert vorliegt, was häufig vorkommt.

IgM Rheumafaktoren können dagegen zu falsch positiven Ergebnissen beim IgM Nachweis führen. Der IgM Rheumafaktor ist ein IgM Autoantikörper, der gegen (körpereigene) IgG Antikörper gerichtet ist. Hat im Testansatz spezifisches IgG an das Antigen gebunden und sind IgM Rheumafaktoren anwesend, können diese ihrerseits an das gebundene IgG (IgG Immunkomplex) binden und somit durch das IgM spezifische Konjugat erfasst werden. Analoges gilt für IgA Rheumafaktoren beim IgA Nachweis.

Die Entfernung der IgG Antikörper aus der Probe verhindert die oben beschriebenen Verfälschungen der Testergebnisse beim IgM und/oder IgA Antikörpernachweis. Einfach und sehr wirksam erfolgt dies durch die Behandlung der Probe mit einem anti-human IgG Antiserum (**Biosorb® IgG Absorbens, Best.Nr. 90-1048** und **90-1120**). Dadurch werden die humanen IgG Moleküle in Immunkomplexen gebunden. Indirekt werden auch Rheumafaktoren entfernt oder zumindest stark reduziert, weil die Rheumafaktoren an die entstehenden Immunkomplexe binden bzw. schon mit dem zu entfernenden IgG komplexiert sind.

Spirochäten Serologie

Die Serologie der zur Gruppe der Spirochäten gehörenden Krankheitserreger (z.B. Treponema pallidum, Borrelia burgdorferi, Leptospira interrogans) ist komplex. Seren von Patienten, die mit einem dieser Erreger infiziert sind oder lediglich mit einem apathogenen Vertreter der Familie der Spirochäten in Berührung kamen, zeigen Kreuzreaktionen (auch mit hohen Titern), wenn sie mit einem heterologen Antigen aus der Gruppe der Spirochäten getestet werden. Weiterhin sind offensichtlich gerade die kreuzreagierenden Spirochätenantigene (Epitope) besonders immunogen, d.h. gerade gegen diese Antigene werden regelmäßig Antikörper in hohen Konzentrationen gebildet. Eine rein serologische Ermittlung des Erregers ist deshalb schwierig bis unmöglich.

Zur Erhöhung der Erregerspezifität der Antikörper Nachweissysteme können die Patientenproben mit einem Absorbens (**Biosorb® Reiterabsorbens, Best.Nr. 36-6105**) vorbehandelt werden. Allerdings ist hierbei zu beachten, dass die Sensitivität aller Spirochäten Ak Nachweise methodenunabhängig durch die Behandlung mit Reiterabsorbens mehr oder weniger reduziert wird.

INHALT UND TESTPRINZIP**Biosorb® IgG Absorbens:**

IgM/IgA Isolierung mittels anti-human IgG; IgM (IgA) Endverdünnung 1:5 bzw. Serumverdünnung nach IgG Abtrennung 1:5. Geeignet für IgG/IgM bzw. IgG/IgA Trennungen für alle Methoden (IFT, Elisa, Blot etc.).

Best.Nr. 90-1048: max. 48 Trennungen, gebrauchsfertig; 2 ml.

Best.Nr. 90-1120: max. 120 Trennungen, gebrauchsfertig; 5 ml.

Durch Behandlung der Patientenseren mit Biosorb® IgG Absorbens (human γ -kettenspezifisch) werden die humanen IgG Moleküle der Probe mit dem anti-IgG Antiserum zu Immunkomplexen gebunden. Diese gebundenen IgG Moleküle können nicht mehr IgM bzw. IgA Antikörper in ihrer Reaktion bei einem IgM bzw. IgA Nachweis stören. Nach Weiterverdünnung mit PBS Puffer beim IFT und Verdünnungspuffer beim Elisa auf die Screeningverdünnung bzw. nach Erstellen einer Verdünnungsreihe für die Titration können die so behandelten Seren direkt im Nachweis eingesetzt werden.

Biosorb® Reiterabsorbens:

Best.Nr. 36-6105: Treponema phagedenis Homogenisat, gebrauchsfertig; 1 ml

Das Serum ist nach der Abtrennung der heterophilen Spirochäten Antikörper 1:5 verdünnt.

Durch Behandlung der Patientenseren mit Biosorb® Reiterabsorbens werden Antikörper gegen gruppenspezifische Spirochätenantigene abgetrennt.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN

Reaktionsgefäße für die Absorption

Pipetten (Bereich 1-1000 μ l)

Vortex Mischer

PBS-Puffer

Kurzzeitmesser

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 89/898895-0/40, e-mail: bios@bios-world.com, Biosite® www.bios-world.com

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Die Absorbenzien müssen bei der jeweils auf dem Etikett angegebenen Temperatur gelagert werden. Bei vorschriftsmäßiger Lagerung sind die Reagenzien **ungeöffnet** bis zum Verfallsdatum haltbar. Nach Ablauf des Verfalldatums sind die Reagenzien nicht mehr zu verwenden. Nach Anbruch müssen die Reagenzien wieder gut verschlossen und bei der auf dem Etikett angegebenen Temperatur gelagert werden. Sie sind dann schnellstmöglich zu verbrauchen. Der Verfall einer Charge definiert nicht die Haltbarkeit bei Wiederverwendung.

SICHERHEITSHINWEISE

1. Die Absorbenzien sind ausschließlich für die in vitro Diagnostik bestimmt.
2. Die Gebrauchsinformation ist vor Testbeginn sorgfältig durchzulesen. Für die Zuverlässigkeit und Aussagekraft der Ergebnisse ist die strikte Befolgung dieser Arbeitsanleitung erforderlich.
3. Die Absorbenzien enthalten 0,09% Natriumazid. Natriumazid ist giftig. Das Verschlucken und Haut- bzw. Schleimhautkontakt ist zu vermeiden. Natriumazidhaltige Reagenzien dürfen nicht mit kupfer- oder bleihaltigen Gegenständen in Verbindung gebracht werden (Bildung explosiver Salze).
4. Sicherheitsbestimmungen der Berufsgenossenschaft und des jeweiligen Institutes (Labors) bezüglich biogefährdenden, giftigen und reizenden Stoffen sind strikt zu beachten (siehe Aushänge, Laborjournal, Sicherheitsbelehrung sowie die aus Zertifizierung bzw. Akkreditierung resultierenden Arbeitsvorschriften).
5. Die aktuellen Regeln der guten Laborpraxis (Good Laboratory Practice, GLP) sollten immer beachtet werden.
6. Nach der Testdurchführung sind alle im Test benutzten Reagenzien und Seren entsprechend den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen und der Arbeitsplatz zu desinfizieren.

UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Als Untersuchungsmaterial kann Serum oder Plasma eingesetzt werden. Bei 5-10°C ist Serum/Plasma ca. 1 Woche haltbar. Für eine Lagerung und Mehrfachnutzung sollten Seren/Plasmen in kleinere Portionen (> 50 µl) aufgeteilt, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei ≤ -20°C eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von größeren Mengen an Seren/Plasmen kann zur Bildung von Proteinaggregaten sowie zum Abbau von Serum/Plasmapbestandteilen führen und ist deshalb zu vermeiden. Da Azid bei den durchzuführenden Untersuchungen nicht stört, wird Serum/Plasma aber auch durch Zugabe von 0,09% Azid für längere Zeit (≥ 1 Jahr) im Kühlschrank in der Regel ohne Analytverlust lagerfähig.

QUALITÄTSKONTROLLE UND FEHLERSUCHE

Die Absorbenzien sollten auf keinen Fall durch Erhitzen auf Raumtemperatur gebracht werden.

Durch die Behandlung mit Reiterabsorbens werden kreuzreagierende Antikörper (genuspezifische Spirochäten Antikörper) entfernt. Dadurch nimmt die Spezifität zu, die Sensitivität aber ab. Vorsicht deshalb beim Vergleich der Ergebnisse des absorbierten Nachweises mit Ergebnissen des nichtabsorbierten Nachweises!

Bei der Weiterverdünnung der vorbehandelten Patientenserum muss die aus der Absorption resultierende Vorverdünnung (1:5) berücksichtigt werden.

Die Sensitivität und Spezifität der Absorbenzien unterliegt einer ständigen Überwachung durch das Bios® Kontrolllabor. Bios® setzt alle verfügbaren WHO oder anderweitig definierten Kontroll- bzw. Serumstandards zur Teststandardisierung ein.

Eine Gewährleistung durch die Firma Bios® ist nur dann gegeben, wenn die Angaben der Gebrauchsinformation exakt eingehalten, im Test nachweislich nur Bios Produkte eingesetzt werden und der Test nur durch Fachpersonal durchgeführt wird.

DURCHFÜHRUNG DER ABSORPTION

Vor der Absorption müssen alle Reagenzien und Serumproben aus dem Kühlschrank genommen werden und sich auf Raumtemperatur erwärmen (mindestens 5 min lang). Die Fläschchen mit den Sorbenzien sollten vor Beginn der Trennungen 3 - 4 Mal langsam auf den Kopf gedreht werden, um eine gute Durchmischung der Suspensionen sicherzustellen.

Anwendung von Biosorb® IgG Absorbens zur Entfernung von IgM oder IgA Bestimmung:

1. Zur Absorption werden 1 Teil Patientenprobe und 4 Teile Biosorb® IgG Absorbens (z.B. 10 µl Serum und 40 µl Biosorb® IgG Absorbens) zusammenpipettiert. Das Fläschchen mit dem Biosorb® IgG Absorbens muss sofort nach der Anwendung wieder in den Kühlschrank zurückgegeben werden.
2. Die Patientenserum/Absorbens Mischung mit dem Vortex vorsichtig und gründlich mischen.
3. Diese Mischung 10-15 min bei Raumtemperatur inkubieren (stehen lassen).
4. In dieser Mischung hat das Serum eine Endverdünnung von **1:5** und kann sofort für IgM/IgA Tests eingesetzt werden oder mit PBS bzw. Elisa Verdünnungspuffer zur gewünschten Testverdünnung weiterverdünnt werden. **Ein Zentrifugationsschritt ist nicht erforderlich.**
5. Biosorb® IgG muss bzw. darf nicht bei den Bios® IgM oder IgA positiven Kontrollen angewendet werden. Die auf dem Etikett dieser Kontrollen angegebenen Titer könnten dadurch verändert werden. Unsere positiven IgM bzw. IgA Kontrollen sind ausreichend vorbehandelt.
6. Bei der Planung von Serumverdünnungen muss die Vorverdünnung (1:5) durch die Absorption berücksichtigt werden
7. Biosorb® IgG Absorbens kann unabhängig von der Methode (IFA, Elisa, Blot etc.) und auch bei Tests anderer Hersteller eingesetzt werden.

Anwendung von Biosorb® Reiterabsorbens zur Absorption gruppenspezifischer Spirochätenantikörper:

1. Zur Absorption werden 1 Teil Patientenprobe und 4 Teile Biosorb® Reiterabsorbens (z.B. 10 µl Serum und 40 µl Biosorb® Reiterabsorbens) zusammenpipettiert. Das Fläschchen mit dem Biosorb® Reiterabsorbens muss sofort nach der Anwendung wieder in den Kühlschrank zurückgegeben werden.
2. Patientenserum/Absorbens Mischung mit dem Vortex vorsichtig und gründlich mischen.
3. Diese Mischung 10-15 min bei Raumtemperatur inkubieren (stehen lassen).
4. In dieser Mischung hat das Serum eine Endverdünnung von **1:5** und kann sofort in Tests eingesetzt werden oder mit PBS bzw. Elisa Verdünnungspuffer zur gewünschten Testverdünnung weiterverdünnt werden. **Ein Zentrifugationsschritt ist nicht erforderlich.**

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 89/898895-0/40, e-mail: bios@bios-world.com, Biosite® www.bios-world.com

5. Biosorb® Reiterabsorbens muss bzw. darf nicht bei den Bios® positiven Spirochäten Kontrollen angewendet werden. Die auf dem Etikett dieser Kontrollen angegebenen Titer könnten dadurch verändert werden. Unsere positiven Kontrollen sind ausreichend vorbehandelt.
6. Bei der Planung von Serumverdünnungen muss die Vorverdünnung (1:5) durch die Absorption berücksichtigt werden.
7. Biosorb® Reiterabsorbens kann unabhängig von der Methode (IFA, Elisa, Blot etc.) und auch bei spirochätenserologischen Tests anderer Hersteller eingesetzt werden.

Wurde eine IgG/IgM (IgG/IgA) Trennung mit Biosorb® IgG Absorbens bereits durchgeführt, kann der Absorptionsschritt mit Reiterspirochäten Absorbens auch nach der Entfernung des IgG mit der IgM (IgA) Fraktion erfolgen. Da in der IgM (bzw. IgA) Fraktion die Antikörperkonzentration bereits verdünnt ist, genügt eine geringere Menge an Reiterspirochäten Absorbens (1 Teil IgM (bzw. IgA) Fraktion und 1 Teil Biosorb® Reiterabsorbens). Nach diesen beiden Absorptionsschritten (1:5 und 1:2) ist die Serumverdünnung **1:10**. Auch in diesem Fall ist ein **Zentrifugationsschritt nicht erforderlich**, sondern mit dem absorbierten Serum kann sofort weitergearbeitet werden.

LITERATUR

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.