

Instrucciones de uso



BIOSORB® ABSORBENTES

I. Aislamiento de IgM e IgA por separación de IgG utilizando antisuero anti-IgG humano apto para todas las determinaciones de IgM o IgA:

Biosorb® IgG Absorbente, 48 separaciones, n.º cat. 90-1048

Biosorb® IgG Absorbente, 120 separaciones, n.º cat. 90-1120

II. Separación de anticuerpos específicos al grupo de las espiroquetas utilizando homogeneizado de *Treponema phagedenis* para la determinación de anticuerpos de borrelia y leptospira:

Biosorb® Absorbente Reiter, n.º cat. 36-6105

PROPÓSITO DEL TEST

Los absorbentes Biosorb® eliminan las inmunoglobulinas, por ej. aquellas que alteran los tests de IgM o IgA o los de determinación de anticuerpos de espiroquetas en suero humano. Los absorbentes Biosorb® están diseñados para su uso en el diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

Aislamiento de IgM e IgA

La presencia de IgG en una muestra puede alterar la determinación de anticuerpos IgM o IgA específicos. Debido a la combinación de una inhibición competitiva y un impedimento estérico, un exceso de anticuerpos IgG puede impedir el enlace de IgM e IgA con el antígeno y dar resultados falso-negativos. Esto es especialmente cierto cuando las concentraciones de IgG son mayores que las de IgM o IgA, algo que sucede con frecuencia.

Por el contrario, los factores reumatoides IgM presentes en el suero del paciente pueden producir resultados falso-positivos a la hora de determinar el IgM. El factor reumatoide IgM es un autoanticuerpo contra anticuerpos IgG (propios del cuerpo). Si durante el test el IgG específico se ha fijado al antígeno y existen factores reumatoides, estos pueden a su vez enlazarse con los IgG fijados (inmunocomplejo IgG) y detectarse así mediante el conjugado IgM específico. Del mismo modo, los factores reumatoides IgA pueden alterar los tests de IgA.

Para descartar estos problemas, debe eliminarse el IgG de la muestra. El tratamiento de las muestras con antisuero anti-IgG humano (**Biosorb® Absorbente IgG, n.º cat. 90-1048 y 90-1120**) proporciona un método simple, rápido y muy eficiente. Con esto se logra que las moléculas de IgG humano se fijen a complejos inmunológicos estables. A la vez, de forma indirecta se eliminan o reducen significativamente los factores reumatoides, puesto que estos bien se fijan a los nuevos inmunocomplejos o bien se han unido ya al IgG que quiere eliminarse.

Serología de las espiroquetas

La serología de los agentes patógenos del grupo de las espiroquetas (*Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira interrogans*, etc.) es compleja. Los sueros de pacientes infectados con uno de estos patógenos o que simplemente estuvieron en contacto con un miembro apatógeno de la familia de las espiroquetas muestran muchas veces reacciones cruzadas (incluso con títulos elevados) cuando se realizan pruebas con un antígeno heterólogo del grupo de las espiroquetas. Asimismo, es obvio que justamente los antígenos de espiroqueta reacción cruzada (epítomos) son altamente inmunogénos, es decir, el cuerpo forma regularmente grandes concentraciones de anticuerpos contra estos antígenos. Por lo tanto, es muy difícil, por no decir imposible, diferenciar los patógenos implicados solo a través de la serología.

Para incrementar la especificidad de los sistemas de determinación de anticuerpos, las muestras del paciente pueden pretratarse con un absorbente (**Biosorb® Absorbente Reiter, n.º cat 366105**). No obstante, e independientemente del método que se aplique, con esta medida se reduce la sensibilidad de los tests de anticuerpos de espiroquetas.

CONTENIDO Y PRINCIPIO DEL TEST

Biosorb® Absorbente IgG:

Aislamiento de IgM/IgA mediante anti-IgG humano; dilución final de IgM (IgA) **1:5**; dilución del suero después de la separación de IgG 1:5. Indicado para todas las separaciones de IgG/IgM o IgG/IgA y todos los métodos (IFI, ELISA, Blot, etc.).

N.º cat. 90-1048: máx. 48 separaciones, listo para usar; 2 ml.

N.º cat. 90-1120: máx. 120 separaciones, listo para usar; 5 ml.

Tratando la muestra del paciente con Biosorb® Absorbente IgG (específico para cadenas γ humanas), las moléculas de IgG humano de la muestra de suero formarán un inmunocomplejo con el antisuero anti-IgG. Una vez fijadas, las moléculas de IgG ya no pueden alterar la reactividad de IgM o IgA en una determinación de IgM o IgA. Estos sueros (tratados) pueden utilizarse entonces directamente en los tests una vez hecha una dilución con tampón PBS (IFI) o con diluyente (ELISA), o tras generar una serie de diluciones para la titulación.

Biosorb® Absorbente Reiter:

N.º cat. 36-6105: Homogeneizado de *Treponema phagedenis*; listo para usar; 1 ml.

Dilución del suero después de la separación de anticuerpos heterófilos de espiroqueta 1:5.

Mediante el tratamiento de los sueros de pacientes con Biosorb® Absorbente Reiter se logran separar los anticuerpos específicos contra antígenos de espiroquetas.

MATERIAL ADICIONAL NECESARIO

Recipiente de reacción para la absorción

Pipetas (rango 1-1000 μ l)

Mezclador Vortex

Tampón PBS

Cronómetro

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Los absorbentes deben almacenarse a la temperatura indicada en la etiqueta. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta siempre que estén **sin abrir** y se sigan las recomendaciones de almacenamiento indicadas. No deben seguir utilizándose transcurrida esa fecha.

Una vez abiertos, deben cerrarse correctamente y almacenarse a la temperatura indicada en la etiqueta. Utilícese lo antes posible. La fecha de caducidad de un lote no es válida una vez abierto el reactivo.

INDICACIONES DE SEGURIDAD

1. Los absorbentes están diseñados exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.
2. Léanse las instrucciones de uso detenidamente antes de empezar el ensayo. Para obtener un resultado fiable e informativo es necesario seguir estrictamente estas instrucciones.
3. Los absorbentes contienen un 0,09 % de azida sódica. Este producto es tóxico, no tragar y evitar cualquier contacto con la piel y las mucosas. Los reactivos que contengan azida sódica no deben entrar en contacto con objetos de plomo o cobre ya que pueden formar azidas metálicas explosivas.
4. Se deben cumplir estrictamente todas las disposiciones de seguridad correspondientes a materiales tóxicos, irritantes y con riesgo biológico establecidas por asociaciones profesionales y por el propio laboratorio (véanse rótulos, boletín informativo del laboratorio, instrucciones de seguridad, así como el reglamento laboral aprobado para la certificación de la empresa).
5. Se deben tener en cuenta en todo momento las normas actuales sobre buenas prácticas de laboratorio (Good Laboratory Practice, GLP).
6. Tras la realización de los tests deben eliminarse los reactivos y sueros empleados según las disposiciones legales correspondientes.

TRATAMIENTO DEL MATERIAL

El test puede utilizarse con suero o con plasma. Ambos tipos de muestras son estables durante aproximadamente una semana a 5-10 °C. Para almacenarlos y utilizarlos varias veces, los sueros/plasmas deberán dividirse en porciones más pequeñas (> 50 µl), criogenizarse con nitrógeno líquido y congelarse a ≤ -20 °C. La congelación y descongelación repetitiva de cantidades mayores de sueros/plasmas puede favorecer la formación de agregaciones proteínicas así como la merma de componentes del suero/plasma y por lo tanto debe evitarse. Puesto que la azida no altera las pruebas que se realizarán, añadir un 0,09 % de azida a este tipo de muestras permite conservarlas por períodos prolongados (de hasta 1 año) en el refrigerador a una temperatura de 5-10 °C, normalmente sin pérdida de propiedades analíticas.

CONTROL DE CALIDAD Y BÚSQUEDA DE ERRORES

En ningún caso se deben calentar los absorbentes para que estén a temperatura ambiente.

El tratamiento de la muestra con los absorbentes Reiter elimina los anticuerpos de reacción cruzada (anticuerpos contra antígenos género específicos de espiroquetas). Esto aumenta la especificidad y reduce la sensibilidad, por lo que es importante tenerlo en cuenta al comparar los resultados de suero absorbido con suero no absorbido.

Para la dilución apropiada de muestras de pacientes pretratadas debe tenerse en cuenta la dilución utilizada ya en la absorción.

El laboratorio de control de calidad de Bios® se encarga de revisar la sensibilidad y la especificidad de los absorbentes de forma permanente. Bios® aplica todos los estándares de control de calidad y de características de las muestras definidos por la OMS u otros organismos para la estandarización de tests.

La empresa Bios® únicamente garantiza este nivel de calidad si se siguen exactamente las indicaciones de las instrucciones de uso, se utilizan únicamente productos Bios y las pruebas corren a cargo de personal cualificado.

REALIZACIÓN DE LA ABSORCIÓN

Antes de realizar la absorción deben sacarse los reactivos y muestras del frigorífico y dejar que alcancen la temperatura ambiente por sí solos (por lo menos durante 5 minutos). Los frascos de absorbente deben invertirse cuidadosamente 3 o 4 veces antes de empezar con la separación para que la suspensión se mezcle correctamente.

Aplicación de Biosorb® Absorbente IgG para eliminar el IgG en la determinación de IgM o IgA (IFI, Elisa, Blot etc.):

1. Para la absorción, pipetear en un recipiente 1 parte de muestra del paciente y 4 partes de Biosorb® Absorbente IgG (por ej. 10 µl de suero y 40 µl de Biosorb® Absorbente IgG). Volver a guardar los frascos de Biosorb® Absorbente IgG en el frigorífico inmediatamente después de usarlos.
2. Mezclar a fondo pero con cuidado la muestra del paciente y el absorbente con ayuda del vórtex.
3. Incubar (dejar reposar) la mezcla entre 10 y 15 minutos a temperatura ambiente.
4. La dilución final del suero de esta mezcla es de **1:5** y puede utilizarse inmediatamente para tests de IgM/IgA o diluirse de nuevo con tampón PBS o diluyente para Elisa hasta alcanzar la dilución deseada para la prueba. **No es necesario centrifugar.**
5. No utilizar Biosorb® IgG en los controles Bios® IgM o IgA positivos, podría alterarse el título indicado en la etiqueta de los controles. Nuestros controles positivos IgM e IgA ya han sido suficientemente pretratados en nuestro laboratorio.
6. A la hora de planificar las diluciones del suero, debe tenerse en cuenta la predilución que se realizará en la absorción (1:5).
7. Los reactivos/kits utilizados para los tests en sí pueden ser de la marca Bios o de otro fabricante.

Aplicación de Biosorb® Absorbente Reiter para la absorción de anticuerpos específicos al grupo de las espiroquetas para la determinación de anticuerpos (IFI, Elisa, Blot etc.).

1. Para la absorción, pipetear en un recipiente 1 parte de muestra del paciente y 4 partes de Biosorb® Absorbente Reiter (por ej. 10 µl de suero y 40 µl de Biosorb® Absorbente Reiter). Volver a guardar los frascos de Biosorb® Absorbente Reiter en el frigorífico inmediatamente después de usarlos.
2. Mezclar a fondo pero con cuidado la muestra del paciente y el absorbente con ayuda del vórtex.
3. Incubar (dejar reposar) la mezcla entre 10 y 15 minutos a temperatura ambiente.
4. La dilución final del suero de esta mezcla es de **1:5** y puede utilizarse inmediatamente en los tests o diluirse de nuevo con tampón PBS o diluyente para Elisa hasta alcanzar la dilución deseada para la prueba. **No es necesario centrifugar.**
5. No utilizar Biosorb® Absorbente Reiter en los controles de espiroquetas positivos Bios®, podría alterarse el título indicado en la etiqueta de los controles. Nuestros controles positivos ya han sido suficientemente pretratados en nuestro laboratorio.
6. A la hora de planificar las diluciones del suero, debe tenerse en cuenta la predilución que se realizará en el paso de absorción (1:5).

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

7. Biosorb® Absorbente Reiter también puede utilizarse para la determinación serológica de anticuerpos de espiroquetas de otros fabricantes.

El absorbente Reiter también se puede utilizar si ya se ha realizado la separación de IgG/IgM (IgG/IgA) con Biosorb® Absorbente IgG. Puesto que la concentración de anticuerpos ya está diluida en la fracción IgM (o IgA), basta con menos cantidad de absorbente Reiter (1 parte de la fracción IgM o IgA y 1 parte de Biosorb® Absorbente Reiter). La dilución (1:5 y 1:2) de la muestra tras ambas absorciones es de **1:10. No es necesario centrifugar**, puede continuarse trabajando con el suero absorbido. Los reactivos/kits utilizados para los tests pueden ser de la marca Bios o de otro fabricante.

BIBLIOGRAFÍA

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.