

## ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CE

**BIOSORB® Απορροφητικό****I. Απομόνωση αντισωμάτων IgM , IgA απο τα IgG, χρησιμοποιώντας αντι-ανθρώπινο IgG αντι-ορό, κατάλληλο για όλους τους IgM & IgA προσδιορισμούς:**

Biosorb® IgG Απορροφητικό, 48 προσδιορισμών, Cat.No. 90-1048

Biosorb® IgG Απορροφητικό, 120 προσδιορισμών, Cat.No. 90-1120

**II. Διαχωρισμός ομάδος ειδικών αντισωμάτων σπειροχαίτης με τη χρήση φαγεδαινικού τρεπνήματος για τον προσδιορισμό Μπορελλίας και Λεπτοσπειρας IgG:**

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

**ΣΚΟΠΟΣ**

Το απορροφητικό Biosorb®, απομακρύνει ανοσοσφαιρίνες που ενοχλούν τη δοκιμασία κατά IgM ή IgA ή δοκιμασία αντισωμάτων σπειροχαίτης σε ανθρώπινο ορό. Είναι σχεδιασμένο μόνο για διαγνωστική χρήση in vitro.

**ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ****Απομόνωση IgM και IgA**

Η δοκιμασία απο ορό για ανίχνευση IgM και IgA έχει αρκετά μειονεκτήματα εάν υπάρχουν παθογόνα IgG. Αυτό συμβαίνει εάν η συγκέντρωση αντιγόνου κατά IgM και IgA είναι χαμηλή σε σύγκριση με τα IgG. Τα IgG μπορεί να επέμβουν στην δράση του αντιγόνου κατά IgM και IgA ανταγωνιζόμενα στη δημιουργία συμπλέγματος με το αντιγόνο, με συνέπεια την αναχαίτηση σύνδεσης των IgM και IgA και ψευδές αρνητικό αποτέλεσμα. Ταυτόχρονα η παρουσία ρευματοειδούς παράγοντα στά IgM στον ορό, οδηγούν σε ψευδές θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία κατά IgM. Ο ρευματοειδής παράγων IgM είναι ένα IgM αντίσωμα άμμεσο εναντίον των αντισωμάτων IgG (ανοσοσύμπλεγμα). Εάν το ειδικό IgG ενωθεί με το αντιγόνο IgM του ρευματοειδούς παράγοντα, μπορεί να ενωθεί με το 'ενεργό' IgG και να ανιχνευθεί απο τη ειδική IgM σφαιρίνη. Ανάλογα ο ρευματοειδής παράγων IgA δρά στη δοκιμασία κατά IgA.

Για τον περιορισμό αυτών των προβλημάτων το IgG πρέπει να απομακρυνθεί απο το δείγμα. Τα απομονωμένα IgM και/η IgA δοκιμάζονται κατόπιν για το ειδικό παθογόνο. Η αραίωση του δείγματος με αντι-ανθρώπινο IgG αντι-ορό (Biosorb® IgG Απορροφητικό Cat.No. 90-1048 and 90-1120) είναι απλή, γρήγορη και αποδοτική μέθοδος. Τα ανθρώπινα IgG μορια ενώνονται σε ένα σταθερό ανοσοσύμπλεγμα (δεν απαιτείται φυγοκέντρηση για την αφαίρεση του συμπλέγματος) το οποίο δεν εμποδίζει περαιτέρω τη δημιουργία συμπλέγματος IgM/IgA, και την εμφάνιση ψευδών αρνητικών αποτελεσμάτων. Η παρουσία ρευματοειδούς παράγοντα επίσης δεν θα οδηγήσει σε ψευδές θετικό αποτέλεσμα.

**Ορολογικά για σπειροχαίτη**

Η σπειροχαίτη ορολογικά (Treponema pallidum, Borrelia burgdorferi, Leptospira interrogans) είναι ένα σύμπλεγμα. Η μόλυνση ορού ασθενούς με κάποιο απο αυτά τα παθογόνα, ή όποιο έρθει σε επαφή με μη παθογόνο στοιχείο της οικογενείας σπειροχαίτης, συχνά αλληλεπιδρά (με υψηλούς τίτλους) όταν δοκιμασθεί με ετερόλογο αντιγόνο της ομάδος σπειροχαίτης. Προφανώς η αλληλεπίδραση (κοινού) αντιγόνου σπειροχαίτης (επιτόπων) είναι ισχυρά ανοσοαντιγόνα αντισώματα που τακτικά σχηματίζονται ειδικά εναντίον αυτών των αντιγόνων/επιτόπων. Ως εκ τούτου, η διαφοροποίηση του εμπλεκόμενου παθογόνου μόνο με ορολογικό μέσο είναι δύσκολο έως αδύνατο. Για αύξηση της ειδικότητας των ορολογικών δοκιμασιών στα αντισώματα σπειροχαίτης δειγμάτων ασθενών πρέπει να αραιωθούν με απορροφητικό (Biosorb® Reiter Absorbent Cat.No. 36-6105) που απομακρύνει την αλληλεπίδραση των αντισωμάτων σε μεγάλη έκταση. Όμως η ευαισθησία της δοκιμασίας αντισωμάτων σπειροχαίτης μειώνεται από το μέτρο αυτό. Οι τίτλοι των ειδικών αντισωμάτων θα μειωθούν περισσότερο ή λιγότερο με την αραίωση με το Reiter σπειροχαίτης.

**ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ****Απορροφητικό Biosorb® IgG:**

Αντι-ανθρώπινο IgG: Η αραίωση του ορού με την εφαρμογή είναι 1:5. Κατάλληλο για προσδιορισμούς IgG/IgM ή IgG/IgA και διαχωρισμός σε όλες τις μεθόδους (IFA, Elisa, Blot κλπ..)

**Cat.No. 90-1048:** για 48 δείγματα ασθενών (διαχωρισμούς) έτοιμο για χρήση; 2 ml.

**Cat.No. 90-1120:** for 120 δείγματα ασθενών (διαχωρισμούς) έτοιμο για χρήση; 5 ml.

Αραιώστε τον ορό με το απορροφητικό Biosorb® τα ανθρώπινα IgG μόρια του ορού που θα ενωθούν με τον αντι- IgG αντιορό. Τα σχηματισμένα IgG μόρια δεν επηρεάζουν την δράση των IgM ή IgA της διαδικασίας. Μετά την αραίωση με το αραιωτικό Biosorb® IgG ο ορός μπορεί να χρησιμοποιηθεί απευθείας ή να αραιωθεί με διάλυμα PBS με το IFA ή ELISA ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης κλπ στην τελική δοκιμή διάλυσης.

**Απορροφητικό Biosorb®**

**Reiter Cat.No. 36-6105:** Τρεπνήμα phagedenis ομογενοποιημένο: έτοιμο για χρήση, 1 ml

Η αραίωση του ορού με την εφαρμογή του απορροφητικού είναι 1:5

Η αραίωση του ορού με το απορροφητικό Biosorb® Reiter απομακρύνει τα αντισώματα με τα κοινά αντιγόνα σπειροχαίτης.

Το Τρεπνήμα phagedenis είναι επίσης κατάλληλο για όλες τις ορολογικές δοκιμασίες IgG σπειροχαίτης με όλες τις μεθόδους (IFA, Elisa, Blot κλπ..) ή κατασκευαστή (ομάδες Μπορελλίας, Λεπτοσπειρας, FTA-ABS).

**ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΣΤΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ**

Δοχεία για την αραίωση των δειγμάτων

Πιπέττες ακριβείας και ρύγχη για διανομή 1-1000 μl

Αναδευτής vortex

Διάλυμα πλύσης (PBS) .

Χρονόμετρο.

## ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ

Αποθηκεύσατε το απορροφητικό σε θερμοκρασία που αναγράφεται στην ετικέτα. Τα μη ανοιγμένα αντιδραστήρια είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα εάν ακολουθούνται αυστηρώς οι οδηγίες αποθήκευσης.

Μετά την πρώτη χρήση τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι καλά κλεισμένα σε θερμοκρασία που αναγράφεται στην ετικέτα. Αυτά τα αντιδραστήρια πρέπει να καταναλώνονται το συντομότερο δυνατό. Η σταθερότητα δεν σχετίζεται υποχρεωτικά με την ημερομηνία λήξης.

## ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

1. Για διαγνωστική χρήση in vitro μόνο.
2. Όλα τα υγρά αντιδραστήρια περιέχουν 0.09% Αζωτίδιο Νατρίου που είναι δηλητηριώδες και δεν πρέπει να έλθει σε επαφή με το δέρμα καθώς και βλεννώδεις μεμβράνες. Το αζωτίδιο που περιέχουν τα αντιδραστήρια δεν πρέπει να έρχεται σε επαφή με οποιαδήποτε αντικείμενα που περιέχουν χαλκό ή μόλυβδο, για παράδειγμα, ορισμένες σωλήνες αποχέτευσης, καθώς αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει στο σχηματισμό εκρηκτικών αζιδίων.
3. Οι κανονισμοί ασφαλείας των εμπορικών ενώσεων και του αντίστοιχου Ινστιτούτου (εργαστήριου) πρέπει να τηρούνται αυστηρά (βλ ανακοινώσεις, εργαστηριακές οδηγίες, οδηγίες για την ασφάλεια κλπ).
4. Οι σωστοί κανόνες εργαστηριακής πρακτικής (GLP κατευθυντήριες γραμμές) θα πρέπει πάντα να ακολουθούνται.
5. Τα υλικά και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς και ο χώρος να απολυμανθεί.

## ΥΛΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ

Ο ορός και το πλάσμα χρησιμοποιούνται για τη δοκιμασία. Ο ορός και το πλάσμα είναι σταθερά για περίπου 1 εβδομάδα στους 5-10°C. Αν η αποθήκευση ή οι

επαναλαμβανόμενες δοκιμές των δειγμάτων γίνονται σε μεγαλύτερες χρονικές περιόδους, τα δείγματα θα πρέπει να υποδιαιρεθούν σε μικρότερες ποσότητες (των 50μl) και να καταψυχθούν ακαριαία σε υγρό άζωτο και να αποθηκευτούν σε θερμοκρασία κάτω των -20°C. Μεγαλύτεροι όγκοι ορού ή πλάσμα δεν πρέπει να εκτείνονται σε επαναλαμβανόμενες ψύξεις-αποψύξεις γιατί μπορεί να προκαλέσουν συσσώρευση πρωτεϊνών και διάσπαση στοιχείων του ορού ή του πλάσματος. Επειδή το αζωτίδιο δεν παρεμβαίνει με τα δείγματα, του ορού ή του πλάσματος, μπορεί στους να σταθεροποιηθεί με 0,09% αζωτίδιο.

Τα εν λόγω δείγματα μπορούν να αποθηκευτούν για παρατεταμένες περιόδους (μέχρι 1 έτος) στους 5-10 °C χωρίς απώλεια αναλύμενης ουσίας

## ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΙ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ

Να μην θερμαίνετε τα αντιδραστήρια για να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου.

Η αραίωση του ορού με απορροφητικό Reiter απομακρύνει τα αλληλεπιδρώντα αντισώματα (αντισώματα στο γένος-ειδικά αντιγόνα της σπειροχαιτίης). Η ειδικότητα της δοκιμασίας θα αυξηθεί, με το απορροφητικό, αλλά η ευαισθησία θα μειωθεί. Αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν στις συγκρίσεις αποτελεσμάτων με ορούς μη αραιωμένους με απορροφητικό.

Η ειδικότητα και η ευαισθησία της δοκιμασίας ελέγχεται συνεχώς από το εργαστήριο της Bios®, και εξασφαλίζεται η συνεπής απόδοση της δοκιμής. Η Bios® διαθέτει όλους τους ορούς και τους πρότυπους ελέγχους από την WHO η άλλες οδηγίες για τυποποίηση της δοκιμασίας. Οι Biognost® θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες, που παρέχονται, ρυθμίζονται σύμφωνα με πρότυπους ορούς ή δείγματα από ασθενείς η δότες.

Η εγγύηση από τη BIOS παρατείνεται μόνο εάν ακολουθούνται αυστηρώς οι οδηγίες χρήσης, εάν τα αποκλειστικά προϊόντα της BIOS εφαρμόστηκαν αποδεδειγμένα στη δοκιμή, και εάν η δοκιμή πραγματοποιείται από εξειδικευμένο προσωπικό.

## ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ

Αφίστε τα αντιδραστήρια και τα δείγματα ορού να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν την χρήση (περίπου 10 λεπτά). Μετά από την επίτευξη της θερμοκρασίας δωματίου αναδεύσατε απαλά το μπουκάλι BIOSORB® 2 ή 3 φορές πριν από τη χρήση για να αναμιχθεί το εναιώρημα πρωτεΐνης.

### Εφαρμογή του απορροφητικού Biosorb® IgG για την απομάκρυνση του IgG σε δοκιμασίες IgM ή IgA:

1. Αραιώστε τον ορό του ασθενούς, **1:5** με απορροφητικό Biosorb® ( π.χ. 10 μl ορού με 40 μl απορροφητικού). Βάλτε το Biosorb® πίσω στο ψυγείο.
2. Αναμίξτε προσεκτικά σε vortex.
3. Επώαστε το σε θερμοκρασία δωματίου για 10-15 λεπτά.
4. Η ανάμιξη μπορεί να γίνει με αραιωμένο διάλυμα πλύσης (PBS) για IFA, με διάλυμα πλύσης για ELISA ή άλλο κατάλληλο διάλυμα πλήσης στην τελική αραιώση/σεις. Φυγοκέντριση δεν απαιτείται.
5. Μην αραιώνετε με Biosorb® της BIOS τον θετικό IgM/IgA μάρτυρα. Οι θετικοί μάρτυρες μας έχουν επαρκώς προεπεξεργαστεί στο εργαστήριο.
6. Εάν απαιτείται αραιώση του ορού να προηγείται το προσροφητικό.

### Εφαρμογή του απορροφητικού Biosorb® Reiter για απομάκρυνση αντισωμάτων σπειροχαιτίης σε προσδιορισμούς IgG:

1. Αραιώστε τον ορό του ασθενούς **1:5** με απορροφητικό Biosorb® Reiter ( π.χ. αναμίξτε 10 μl από δείγμα ορού με 40 μl BIOSORB Reiter Απορροφητικό). Βάλτε το Biosorb® Reiter απορροφητικό πίσω στο ψυγείο
2. Αναμίξτε προσεκτικά σε vortex.
3. Επώαστε το σε θερμοκρασία δωματίου για 10-15 λεπτά.
4. Η ανάμιξη μπορεί να γίνει με αραιωμένο διάλυμα πλύσης (PBS) για IFA, με διάλυμα πλύσης για ELISA ή άλλο κατάλληλο διάλυμα πλήσης στην τελική αραιώση/σεις. Φυγοκέντριση δεν απαιτείται.

5.Μην αραιώνετε με απορροφητικό τον θετικό ορό σπιροχαιτής. Οι θετικοί οροί σας έχουν επαρκώς προεπεξεργαστεί στο εργαστήριο μας.

6. Κατά το σχεδιασμό αραιώσεων του ορού λαμβάει υπόψη πριν την αραιώση του δείγματος ασθενούς από το βήμα της απορρόφησης. Εάν χρειάζεται διαχωρισμός IgG/IgM, IgA με απορροφητικό πριν τη απορρόφηση (του παράγοντα IgM/IgA) με απορροφητικό Reiter, απαιτείται μικρότερη ποσότητα Biosorb® απορροφητικού Reiter (π.χ. 1 μέρος παράγοντα IgM και 1 μέρος απορροφητικού Reiter). Η συγκέντρωση αντισωμάτων στο δείγμα είναι μικρότερη μετά τη πρώτη αραιώση με το απορροφητικό. Η αραιώση του δείγματος μετά τις δύο αραιώσεις του αραιωτικού είναι (1:5 και 1:1) είναι **1:10**.

#### **Βιβλιογραφία**

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