

Instruções de utilização

ABSORVENTES BIOSORB®



I. Isolamento de IgM e IgA por separação de IgG utilizando antisoro anti-humano IgG adequado para todas as determinações IgM ou IgA:

Absorvente Biosorb® IgG, 48 separações, Cat.No. 90-1048

Absorvente Biosorb®IgG, 120 separações, Cat.No. 90-1120

II. Separação de anticorpos específicos de grupo anti-spirochaetes utilizando Treponema phagedenis homogenate adequado para determinações de Borrelia e Leptospira IgG:

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

DOMINIO DE APLICAÇÃO

Os Absorventes Biosorb® removem as imunoglobulinas que provocam distúrbios nos testes de IgM ou IgA ou testes de anticorpos anti-spirochetal no soro humano. São para utilização no diagnóstico in vitro.

INTRODUÇÃO

Isolamento de IgM e IgA

Testar o soro directamente para a actividade das IgM ou IgA tem algumas desvantagens em caso de presença simultânea das IgG específicas do agente patogénico. Isto é especialmente verdade se as concentrações de IgM e IgA específicas do antigénio são baixas comparando com as IgG específicas. As IgG podem interferir com as interacções do antigénio IgM e IgA competindo por locais de ligação do antigénio (steric hindrance). Isto pode provocar a redução ou inibição de ligações IgM/IgA e provocar resultados falsos negativos. Por outro lado, o factor reumatóide IgM existente no soro do doente pode provocar resultados falsos positivos em testes de IgM. O factor reumatóide IgM é um autoanticorpo IgM direccionado contra os anticorpos IgG (em complexos imunes). Se a IgG específica liga-se ao factor reumatóide antigénio IgM pode ligar-se à IgG “activada” e detectada pelo conjugado específico de IgM. Por analogia, factores reumatóide IgA podem afectar testes de IgA.

Para eliminar estes problemas as IgG têm que ser eliminadas da amostra. As IgM e/ou IgA isoladas são então testadas para a especificidade dos agentes patogénicos. Sujeitar as amostras a um tratamento com antisoro anti-humano IgG (**Absorvente IgG Biosorb® Cat.No. 90-1048 e 90-1120**) constitui um método simples, rápido e eficiente. Moléculas de IgG humana ligam-se em complexos imunes estáveis (não é necessária a centrifugação para remoção destes complexos) que já não bloqueiam mais os locais de ligação das IgM/IgA, evitando assim resultados falsos negativos. Indirectamente, também os factores reumatóide existentes não provocarão resultados falsos positivos.

Serologia de Spirochaetes

A serologia de Spirochaetal (*Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, *Leptospira interrogans*) é complexa. Soros de doentes infectados com um destes agentes patogénicos ou que só entraram em contacto com um membro patogénico da família de spirochaete exibem frequentemente reacções cruzadas (também com títulos elevados) quando testados com um antigénio heterologoso do grupo spirochetal. Obviamente, os antigénios spirochaetal (epitopos) da reacção cruzada (frequente) são fortes imunogenes, i.e. os anticorpos formam-se regularmente especialmente contra estes antigénios/epitopos. A diferenciação do agente patogénico envolvido sómente por meios serológicos é difícil ou até impossível.

Para aumentar a especificidade de serotestes de anticorpos spirochaetal as amostras de doentes devem ser pré-tratadas com absorvente (**Absorvente Reiter Biosorb® Cat.No. 36-6105**) que remove uma parte significativa dos anticorpos que provocam a reacção cruzada. No entanto, a sensibilidade do teste de anticorpo spirochaetal fica assim reduzida. Os títulos dos anticorpos específicos serão mais ou menos reduzidos através do tratamento do soro com Reiter spirochaetes.

CONTEÚDO E RESUMO EXPLICATIVO DO TESTE

Absorvente IgG Biosorb®:

Sistema baseado em IgG anti-humana: a diluição do soro após tratamento é 1:5. Adequada para todas as separações IgG/IgM ou IgG/IgA para todos os métodos (IFA, Elisa, Blot etc.)

Cat.No. 90-1048: para 48 amostras de doentes (separações), pronto a usar; 2 ml.

Cat.No. 90-1120: para 120 amostras de doentes (separações), pronto a usar; 5 ml.

O tratamento de amostras de doentes com moléculas Biosorb® reagente humano IgG das amostras de soro will be complexed with anti-IgG antiserum. Moléculas de IgG fixas não provocam interferências na reactividade das IgM ou IgA no teste. Após tratamento com Absorvente IgG Biosorb® o soro pode ser utilizado directamente ou diluído com tampão fosfato salino até a diluição final.

Absorvente Reiter Biosorb®

Cat.No. 36-6105: Sistema baseado no *Treponema phagedenis homogenate*; pronto a usar; 1 ml.

Diluição das amostras de soro após a aplicação do absorvente é 1:5.

O tratamento de soros de doentes com o Absorvente Reiter Biosorb® remove os anticorpos direccionados contra os antigénios frequentes dos spirochaetes. Este *Treponema phagedenis ultra sonicate* é também adequado para todos os testes IgG de serologia de spirochaete independentemente do método (IFA, Elisa, blot etc.) ou fabricante (*Borrelia species*, FTA-ABS, *Leptospira species*).

MATERIAL E EQUIPAMENTO NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO

Recipientes adequados para as absorções

Pipetas de precisão e pontas para pipetas de 1-1000 µl

Agitador Vortex

Tampão fosfato salino

Relógio

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

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Conservar os Absorventes à temperatura de 5-10°C. Os Absorventes são estáveis até à data de validade, se as recomendações sobre a sua conservação forem rigorosamente cumpridas.

Não utilizar os absorventes após a respectiva data de validade.

PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA

1. Os absorventes são para utilização no diagnóstico in vitro exclusivamente.
2. Os absorventes contêm 0.09% de azida sódica. Azida sódica é um veneno. Não ingerir e evitar qualquer contacto com a pele e membranas mucosas. Nenhum dos reagentes contendo azida deverá entrar em contacto com objectos que contenham cobre ou chumbo, como por exemplo as canalizações e provocar a formação de azidas metálicas explosivas.
3. Seguir estritamente as precauções de segurança de organizações internacionais e do próprio laboratório (consultar avisos, procedimentos laboratoriais, instruções de segurança etc.).
4. As regras das Boas Práticas Laboratoriais (regras GLP) deverão ser sempre cumpridas.
5. Amostras e reagentes utilizados durante o teste deverão ser deitados fora obedecendo à legislação em vigor.

AMOSTRAS

O teste pode ser efectuado com soro ou plasma. Amostras de soro e plasma são estáveis durante aprox. 1 semana se conservadas à temperatura de 5-10°C. Se é necessário conservar ou testar repetidamente as amostras por períodos mais prolongados, as mesmas deverão ser fracionadas em pequenas alíquotas (50 µl), congeladas em azoto líquido e conservadas a -20°C. Grandes volumes de soro ou plasma não devem ser submetidos a diversos ciclos de congelação / descongelação dado que esta situação pode provocar agregação de proteínas e degradar alguns dos componentes do soro ou do plasma. Amostras de soro e plasma podem ser estabilizadas com azida a 0.09% desde que isso não provoque interferência no teste. (a azida poderá interferir e.g. com ELISAs baseadas em peroxidase). Tais amostras podem ser conservadas por períodos mais prolongados (até 1 ano) à temperatura 5-10°C sem perda do analito.

CONTROLO DE QUALIDADE E RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Os absorventes não devem ser aquecidos com o objectivo de os fazer atingir a temperatura ambiente.

O tratamento de soros com o Absorvente Reiter retira os anticorpos que provocam reacções cruzadas (anticorpos específicos do antigénio genus dos spirochaetes). A especificidade do teste melhora após este procedimento, mas a sua sensibilidade diminui. É necessário tomar este dado em consideração quando se compara os resultados de soros que foram sujeitos à absorção com os resultados de soros que não foram sujeitos a este tratamento.

Na preparação de uma diluição correcta dos soros tem que se considerar igualmente a diluição efectuada a seguir à absorção.

A sensibilidade e a especificidade do teste são permanentemente monitorizadas no laboratório de controlo da Bios® para garantir a consistência do desempenho do teste. Para a padronização do teste a Bios® aplica todos os padrões da OMS ou outras instituições oficiais para soros e controlos. Os controlos positivo e negativo da Biognost® fornecidos estão calibrados de acordo com padrões de soros de doentes clinicamente caracterizados ou dadores de sangue disponíveis.

RESUMO EXPLICATIVO DA ABSORÇÃO

Deixe todos os reagents e amostras de soros atingir a temperatura ambiente.

Aplicação do Absorvente Biosorb® IgG na remoção de IgG em testes IgM ou IgA:

1. Diluir o soro 1:5 com reagente Biosorb® (por exemplo misturar 10 µl de soro com 40 µl de Biosorb®).
2. Colocar cuidadosamente a mistura no Vortex
3. Incubar a mistura à temperatura ambiente durante 10-15 minutos.
4. Após a incubação, a mistura (fracção IgM/IgA, diluição de soro 1:5) pode ser utilizada de imediato para o teste IgM/IgA ou diluída com tampão fosfato salino para obter a diluição final. Não é necessário centrifugar.
5. Não aplicar Biosorb® aos controlos positivos Bios IgM/IgA. Os nossos controlos positivos já foram sujeitos ao pré-tratamento no nosso laboratório.
6. Quando planear as diluições dos soros tomar em consideração a pré-diluição da amostra na fase de absorção.

Aplicação do Absorvente Biosorb® Reiter na absorção de anticorpos específicos do genus nos spirochaetes em determinações de IgG:

1. Diluir o soro 1:5 com Absorvente Biosorb® Reiter (por exemplo misturar 10 µl de soro com 40 µl de Absorvente Biosorb® Reiter).
2. Colocar cuidadosamente a mistura no Vortex
3. Incubar a mistura à temperatura ambiente durante 10-15 minutos.
4. A mistura pode ser diluída com tampão fosfato salino para obter a diluição final e ser utilizada directamente no teste. A centrifugação para a remoção de complexos imunes não é necessária.
5. Não aplicar o Absorvente Biosorb® Reiter aos controlos positivos spirochete da Bios. Os nossos controlos positivos já foram sujeitos ao pré-tratamento no nosso laboratório.
6. Quando planear as diluições dos soros tomar em consideração a pré-diluição da amostra na fase de absorção.

Se a separação de IgG/IgM, IgA utilizando Absorvente Biosorb® IgG é efectuada antes da absorção (da fracção IgM/IgA) com o absorvente Reiter, é necessário um volume menor de absorvente Biosorb® Reiter (por exemplo 1 parte da fracção IgM e 1 parte do Absorvente Reiter). A concentração total de anticorpos na amostra já foi reduzida na primeira fase de absorção. A diluição da amostra após as duas fases de absorção (1:5 e 1:2) é 1:10.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

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