

Használati utasítás



BIOSORB® ABSZORBENSEK

I. IgM és IgA izolátum készítése IgM vagy IgA meghatározáshoz, anti-humán IgG antiszérummal történő IgG eltávolítása által:

Biosorb® IgG Abszorbens, 48 szeparálás, Kat. szám: 90-1048

Biosorb® IgG Abszorbens, 120 szeparálás, Kat. szám: 90-1120

II. Spirocheták csoportspecifikus antitestjeinek szeparálása Borrelia és Leptospira IgG meghatározáshoz Treponema phagedenis homogenate alkalmazásával:

Biosorb® Reiter Abszorbens, Kat. szám: 36-6105

FELHASZNÁLÁSI TERÜLET

A Biosorb® Abszorbensek eltávolítják a humán szérumban történő IgM, IgA vagy a spirocheta antitestek meghatározását zavaró immunglobulinokat. Csak in vitro diagnosztikában használhatók.

BEVEZETÉS

IgM és IgA izolálása

Az IgM vagy IgA aktivitás szérumból történő közvetlen meghatározásának több hátránya van patogén specifikus IgG jelenlétében. Ez főleg igaz, ha az antigén specifikus IgM és IgA koncentrációja alacsony az antigén specifikus IgG-hez viszonyítva. Az IgG gátolja az IgM és IgA antigén kötőhelyekért történő versengését. Ennek az eredménye az IgM/IgA kötés csökkentése vagy gátlása és így fals negatív eredmények. Másrészt az IgM meghatározásnál a beteg szérumban az IgM rheumatoid faktor jelenlétében fals pozitív eredményeket okoz. IgM rheumatoid faktor egy IgM autoantitest az IgG antitestekkel szemben (immunkomplexekben). Ha a specifikus IgG kötődött az antigénhez, az IgM rheumatoid faktorok kötődhetnek az "aktivált" IgG -hez és detektálhatók specifikus IgM konjugátummal. Ezen analógia alapján az IgA rheumatoid faktorok befolyásolják az IgA meghatározásokat.

Ezen problémák kiküszöböléséhez az IgG-t el kell távolítani a mintából. Az izolált IgM és/vagy IgA patogénnel szembeni specificitását ezt követően vizsgáljuk. A minták anti-humán IgG antiszérummal (**Biosorb® IgG Abszorbens Kat.szám: 90-1048 és 90-1120**) történő kezelése egyszerű, gyors és hatékony módszer. A humán IgG molekulák stabil immunkomplexben kötődtek (az immunkomplexek eltávolítása centrifugálással nem szükséges), amelyek nem teljes hosszában kötik le az IgM/IgA kötő helyeket, így fals negatív eredményeket eredményezhetnek. A rheumatoid faktorok jelenléte nem közvetlenül, de fals pozitív eredményekhez vezethet.

Spirochaeták szerológiája

A Spirochaeták szerológiája (Treponema pallidum, Borrelia burgdorferi, Leptospira interrogans) komplex. A beteg szérumok fertőzöttek ezen patogénnel valamelyikével, vagy a spirochaeta család valamelyik apatogén tagjával kerültek kapcsolatba, amelyek gyakran keresztreakciót mutatnak (magas titerrel), amikor a spirochaeta csoporttól származó heterogén antigénnel végeztük a meghatározást. Nyilvánvalóan a keresztreakáló (gyakori) spirochaeta antigének (epitópok) erős immunogének, ezért az antitestek teljesen ezekkel az antigénnel/epitópokkal szemben alakulnak át. Ezért rendkívül nehéz kizárólag szerológiai módszerek alapján elkülöníteni a jelenlévő patogént.

A beteg minta spirochaeta antitestjei meghatározására használható szerotesztek specificitása növelhető abszorbenssel történő előkezeléssel (**Biosorb® Reiter Abszorbens Kat.szám: 36-6105 vagy Biosorb® Reiter**) melyek eltávolítják a keresztreakáló antitestek nagy részét. Bár, a spirochaeta antitest assay-k szenzitivitása csökken ezen kezelés által. A specifikus antitestek titeri többé vagy kevésbé csökkennek a szérum Reiter spirochaeta-al történő kezelésével.

TARTALOM ÉS A MEGHATÁROZÁS ELVE

Biosorb® IgG Abszorbens:

Anti-humán IgG alapú rendszer: a szérumhígítás kezelés után 1:5. IgG/IgM vagy IgG/IgA szeparálásra alkalmas valamennyi módszer esetén (IFA, Elisa, Blot stb.)

Kat. szám: 90-1048: 48 beteg mintához (szeparálások), felhasználásra kész; 2 ml.

Kat. szám: 90-1120: 120 beteg mintához (szeparálások), felhasználásra kész; 5 ml.

A beteg minta Biosorb® reagenssel történő előkezelése hatására a szérum mintákból a humán IgG molekulák alkotnak komplexet az anti-IgG antiszérummal. A fixált IgG molekulák nem képesek zavarni az IgM, vagy IgA reaktivitását a meghatározás során. A szérum Biosorb® IgG Abszorbenssel történő kezelését követően - közvetlenül, vagy hígítva PBS-sel az IFA-hoz, vagy ELISA hígító pufferrel - használhatók a teszt végső hígításához.

Biosorb® Reiter Abszorbens:

Kat.szám: 36-6105: Treponema phagedenis homogenate alapú rendszer; felhasználásra kész; 1 ml.

Az abszorbens felvitele után a szérum minták hígítása 1:5.

A beteg minta szérum kezelése Biosorb® Reiter Abszorbenssel eltávolítja a legfőbb spirochaeta antigén ellen irányuló antitesteket. A Treponema phagedenis ultra sonicate alkalmas a spirochaeta szerológiában valamennyi IgG assay-hez, függetlenül az eljárástól (IFA, Elisa, blot, stb.) és a készítménytől (Borrelia species, FTA-ABS, Leptospira species).

SZÜKSÉGES ANYAGOK ÉS ESZKÖZÖK

Megfelelő tartók az abszorpció végrehajtásához

1-1000 µl-es precíziós pipetták és pipetta hegyek

Vortex

PBS puffer

Óra

TÁROLÁS ÉS STABILITÁS

Az abszorbenseket 5-8°C-on tárolja. Tilos a melegíteni és távol kell tartani a naptól. Az abszorbensek a címkén jelzett lejárat ideig stabilak, az ajánlások szigorú betartása mellett. Ne használja az abszorbenseket lejárat után.

BIZTONSÁGI ELŐÍRÁSOK

1. Az abszorbensek csak in vitro diagnosztikában használhatók.
2. Az abszorbensek 0.09% nátrium-azidot tartalmaz. A nátrium-azid mérgező. Ne nyelje le és kerülje a bőrrel és a mucous membránnal való érintkezését. Az azid tartalmú reagensek ne kerüljenek kapcsolatba réz vagy ólom tartalmú tárgyakkal, mert ez robbanó fém-azidok keletkezéséhez vezethet.
3. A hivatalos biztonsági előírásokat, valamint az egyéni irányelveket szigorúan követni kell (lásd: laboratóriumi irányelvek, biztonsági instrukciók, stb.).
4. Az aktuális Good Laboratory Practice (GLP irányelvek) szabályait mindig követni kell.
5. Az anyagokat és reagenseket rendeltetésszerűen szabad használni az alkalmazott jogi szabályoknak megfelelően.

A TESZTHEZ HASZNÁLT ANYAGOK

A meghatározáshoz szérum és plazma egyaránt használható. A szérum és plazma minták stabilitásukat 5-10°C között körülbelül 1 hétig őrzik meg. Amennyiben a minták hosszabb időn keresztül tárolást vagy újrafelhasználást igényelnek, a mintákat ossza kisebb adagokra (50 µl), hirtelen fagyassza folyékony nitrogénnel, majd –20°C-on tárolja. A szérumot vagy plazmát ne tegye ki ismételt fagyasztásnak-olvadásnak, mert az a fehérje aggregátumok képződését és a szérum és plazma néhány komponensének degradációját okozhatja. A szérum és plazma minták stabilitását 0.09% azid-dal biztosíthatja, ez nem gátolja a meghatározást (az azid gátolja például a peroxidáz alapú ELISA-kat). Így a minták hosszabb ideig megőrizhetik stabilitásukat (akár 1 év) 5-10°C-on analízis vesztés nélkül.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS HIBAEELHÁRÍTÁS

A szorbensek szobahőmérsékletre hozását nem szabad melegítéssel végezni.

A szérumok Reiter Abszorbenssel való kezelésével távolítsa el a keresztreagáló antitesteket (spirochaeták genus-specifikus antigének elleni antitestek). Ezen eljárással a teszt specificitása növelhető, de a teszt szenzitivitása csökken. Ezt figyelembe kell venni az abszorbált szérum minták eredményeinek összehasonlításánál a nem abszorbált szérum minták eredményeivel.

A szérum megfelelő tesztíhígításának elkészítéséhez az előző szérumíhígításból következő abszorpciót kell figyelembe venni.

Az assay szenzitivitása és specificitása a Bios® kontroll laboratóriumokban folyamatosan monitorozott a teszt teljesítményének megőrzése végett. A Bios® -készítmények valamennyi szérum és kontroll standardja a WHO, vagy egyéb hivatalos standardizációs intézettől származtatható. Biognost® pozitív és negatív kontrollok a standardokhoz, klinikailag karakterizált betegek szérumaihoz, vagy vér donorok szérumaihoz képest lettek kalibrálva.

AZ ABSZORPCIÓ KIVITELEZÉSE

Hozza valamennyi reagenst és szérum mintát szobahőmérsékletre az abszorpció előtt (kb. 10 perc). Felmelegedést követően óvatosan forgassa a Biosorb® üveget 2-3-szor fejfelé használat előtt, a protein szuszpenzió összekeveredése végett.

Biosorb® IgG Abszorbens alkalmazása IgG eltávolítására IgM vagy IgA meghatározásban:

1. Hígítsa a beteg szérumot **1:5** arányban Biosorb® reagenssel (például keverjen 10 µl szérum mintát 40 µl Biosorb®-al). Tegye a Biosorb®-t vissza a fagyasztóba.
2. Alaposan keverje össze a keveréket.
3. Inkubálja a keveréket szobahőn 10-15 percig. Fedje le az elegyet parafilmmel.
4. Inkubáció után a keverék (IgM/IgA frakció, szérum hígítás 1:5) közvetlenül használható IgM/IgA meghatározáshoz vagy hígítsa PBS-el az IFA-hoz, Elisa hígító pufferrel vagy egyéb megfelelő pufferrel a végső tesztíhígításhoz. Centrifugálás nem szükséges.
5. Ne helyezzen Biosorb® -t a Bios pozitív IgM/IgA kontrollokhoz. A pozitív kontrollok már megfelelően előkezelték.
6. Mikor a szérumíhígításokat készíti, vegye figyelembe a beteg minták abszorpció lépésben történő előhígítását.

Biosorb® Reiter Abszorbens alkalmazása spirochaeták genus-specifikus antitestjeinek abszorpciójához IgG meghatározásokban:

1. Hígítsa a beteg szérumot 1:5 arányban Biosorb® Reiter Abszorbenssel (például keverjen össze 10 µl szérum mintát 40 µl Biosorb® Reiter Abszorbenssel). Tegye a Biosorb® Reiter Abszorbent vissza a fagyasztóba.
2. Alaposan keverje össze a keveréket.
3. Inkubálja a keveréket szobahőn 10-15 percig.
4. A keveréket lehet hígítani PBS-el az IFA-hoz, Elisa hígító pufferrel vagy egyéb megfelelő pufferrel a végső hígításhoz vagy közvetlenül felhasználható a teszthez. Az immunkomplexek eltávolítása centrifugálással nem szükséges.
5. Ne helyezzen Biosorb® Reiter Abszorbent a Bios pozitív spirochaeta kontrollokhoz. A pozitív kontrollok már megfelelően előkezelték.
6. Mikor a szérumíhígításokat készíti, vegye figyelembe a beteg minták abszorpció lépésben történő előhígítását.

Ha az IgG/IgM, IgA szeparációt Biosorb® IgG Abszorbens használatával hajtja végre a Reiter abszorbenssel történő abszorpciót megelőzően (IgM/IgA frakció), akkor kevesebb mennyiségű Biosorb® Reiter Abszorbens szükséges (például 1 rész IgM frakció és 1 rész Reiter Abszorbens). A minta összes antitest koncentrációja az első abszorpció lépés által már lecsökkent. A minta hígítás foka mindkét abszorpció lépés elvégzése után **1:10** (1:5 és 1:2).

IRODALMAK

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 89/78020599-0/-40, e-mail: bios@bios-world.com, Biosite® www.bios-world.com