

Quantitative determination of human immunoglobulin M (IgM) IVD

Store 2 - 8°C.

INTENDED USE

The IgM is a quantitative turbidimetric test for the measurement of IgM in human serum or plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-human IgM antibodies when mixed with samples containing IgM, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the IgM concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known IgM concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

IgM is the only immunoglobulin that a neonate normally synthesizes, and in adults, it represents the 5-10% of the total immunoglobulins. Its structure is a pentamer of five IgG molecules and its high molecular weight (900.000 daltons) prevents its passage into extravascular spaces.

IgM concentration is decreased in diseases related with hereditary or acquired deficiencies of the immunoglobulin production. Polyclonal increases in serum immunoglobulins are the normal response to infections. The IgM generally increases as a primary response to virus infections and blood stream infections such as malaria and primary biliary cirrhosis. In multiple myeloma, if the paraprotein proves to be IgM, the diagnosis is probably Waldenström macroglobulinemia.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human IgM, pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay is calibrated to the Reference Material ERM-DA470k/IFCC. It must be used the PROT CAL Calibrator to calibrate the reagent. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every month, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL Calibrator dilutions in NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the IgM calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the IgM concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 340 nm filter (320 - 360 nm).

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged. Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

1. Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.
2. Assay conditions:
 - Wavelength: 340
 - Temperature: 37 °C
 - Cuvette length path: 1cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

Reagent R1	800 µL
Sample or Calibrator	10 µL

5. Mix and read the absorbance (A₁) after the sample addition.

6. Immediately, pipette into de cuvette:

Reagent R2	200 µL
------------	--------

7. Mix and read the absorbance (A₂) of calibrators and sample exactly 2 minutes after the R2 addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference (A₂-A₁) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the IgM concentration of each calibrator dilution. IgM concentration in the sample is calculated by interpolation of its (A₂-A₁) in the calibration curve.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Cod.:1102004). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES⁴

Between 40 - 230 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Measurement range:** Up to 300 mg/dL under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and re-tested again. The linearity limit and measurement range depend on the sample to reagent / ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
2. **Detection Limit:** Values less than 1 mg/dL give non-reproducible results.
3. **Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 2000 mg/dL.
4. **Sensitivity:** Δ 2.4 mA. mg/dL at 30 mg/dL.
5. **Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using two levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)	
	68.67 mg/dl	143.3 mg/dl
Total	5.7%	2.8%
Within Run	1.1%	0.7%
Between Run	3.8%	2.3%
Between Day	4.2%	1.3%

6. **Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using the Elecsys system from Roche. 100 samples ranging from 50 to 210 mg/dL of IgM were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.958 and the regression equation $y = 0.974x + 1.296$.

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

INTERFERENCES⁵⁻⁶

Hemoglobin (10 g/L), bilirubin (20 mg/dL) and lipemia (5 g/L), do not interfere. Rheumatoid factors at 900 IU/mL may interfere. Other substances may interfere^{5,6}.

NOTES

1. Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 – 315.
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1966; 14: 401-406.
5. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PACKAGING

Ref.: 1103024

Cont.

R1. Diluent: 1 x 40 mL
R2. Antibody: 1 x 10 mL

Determinación cuantitativa de inmunoglobulina M (IgM)

IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensayo turbidimétrico para la cuantificación de IgM en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos anti-IgM forman compuestos insolubles cuando se combinan con la IgM de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de IgM en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de IgM de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La IgM es la única inmunoglobulina que sintetiza el recién nacido. En adultos representa el 5-10% del total de inmunoglobulinas. Su estructura es pentamérica y su elevado peso molecular (900.000 daltons) evita su paso a espacios extravasculares.

Su concentración se halla disminuida en enfermedades relacionadas con deficiencias hereditarias o adquiridas de la producción de inmunoglobulinas.

La respuesta normal a las infecciones consiste en aumentar la producción de inmunoglobulinas. La IgM generalmente aumenta en infecciones víricas e infecciones del torrente circulatorio como la malaria y la cirrosis biliar primaria. En caso de mieloma múltiple, si la paraproteína es una IgM, probablemente se trata de una macroglobulinemia de Waldenström. Las crioglobulinemias de origen monoclonal, son generalmente debidas a IgM.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-IgM humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACION

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el Calibrador PROT CAL para la calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como bireactivo) se debe recalibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION

Reactivos: Listos Para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador PROT CAL en NaCl 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de IgM, multiplicar la concentración de IgM del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Indicadores de deterioro: La presencia de partículas y turbidez.

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 340 nm (320-360 nm).

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C.

Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas.

No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 340 nm
 - Temperatura: 37°C
 - Paso de luz de la cubeta: 1 cm
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1	800 µL
Muestra o Calibrador	10 µL

5. Mezclar y leer la absorbancia (A₁) después de la adición de la muestra.

6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	200 µL
-------------	--------

7. Mezclar y leer la absorbancia (A₂) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ - A₁) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de IgM de cada dilución del Calibrador. La concentración de IgM en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂ - A₁) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL cod: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA⁴

Entre 40 - 230 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. **Rango de medida:** hasta 300 mg/dL en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.
2. **Límite de detección:** valores por debajo de 1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. **Sensibilidad:** Δ 2,4 mA / mg/dL (30 mg/dL).
4. **Efecto prozona:** No se observa hasta valores de > 2000 mg/dL.
5. **Precisión:** El reactivo ha sido probado durante 20 días con dos niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	68.67 mg/dl	143.3 mg/dl
Total	5.7%	2.8%
Within Run	1.1%	0.7%
Between Run	3.8%	2.3%
Between Day	4.2%	1.3%

6. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) se comparó con el método Elecsys de Roche. 100 muestras de concentraciones de IgM entre 50 y 210 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión fue de 0,958 y la ecuación de la recta de regresión y = 0,974x + 1,296.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y los lípidos (5 g/L), no interfieren. Los factores reumatoídes pueden interferir a concentraciones superiores a 900 UI/mL. Otras sustancias pueden interferir^{5,6}.

NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
5. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref.: 1103024	Cont.	R1. Diluyente: 1 x 40 mL R2. Anticuerpo :1 x 10 mL
---------------	-------	---

Détermination quantitative d'immunoglobuline M (IgM)

IVD

Conserver à 2 - 8°C.

USAGE RECOMMANDÉ

Essai turbidimétrique pour quantifier l'IgM en sérum ou plasma humain.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les anticorps anti-IgM forment des composés insolubles quand ils sont associés avec l'IgM de l'échantillon du patient, occasionnant un changement d'absorbance proportionnel à la concentration d'IgM dans l'échantillon, et qui peut être quantifiée par comparaison avec un calibre d'IgM de concentration connue.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'IgM est la seule immunoglobuline synthétisée par le nouveau-né. Chez les adultes elle représente 5-10% du total des immunoglobulines. Sa structure est pentamérique et son poids moléculaire élevé (900 000 daltons) évite son passage dans des espaces extravasculaires.

Sa concentration est diminuée dans des maladies liées avec des déficiences héréditaires ou acquises de la production d'immunoglobulines.

La réponse normale aux infections consiste à augmenter la production d'immunoglobulines. L'IgM augmente généralement dans les infections virales du flux sanguin telles que la malaria et la cirrhose biliaire primaire. En cas de myélome multiple, si la paraprotéine est une IgM, il s'agit probablement d'une macroglobulinémie de Waldenström. Les cryoglobulinémies d'origine monoclonale, sont généralement dues à l'IgM.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azoture de sodium 0,95 g/L.
Anticorps (R2)	Sérum de chèvre, anti-IgM humaine, pH 7,5. Azoture de sodium 0,95 g/L.
En option :	Cod : 1102003 PROT CAL

ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport au matériel de référence ERM-DA470k/IFCC. Pour l'étalonnage il faut utiliser le calibre PROT CAL. Le réactif (aussi bien monoréactif que biréactif) doit être recalibré tous les mois, quand les contrôles sont en dehors des spécifications, et quand le lot de réactif ou la configuration de l'instrument change.

PRÉPARATION

Réactifs : Prêts à l'usage.

Courbe d'étalonnage : Préparer les dilutions suivantes du calibre PROT CAL en NaCl 9 g/L comme diluant. Pour obtenir les concentrations de chaque dilution d'IgM, multiplier la concentration d'IgM du calibre par le facteur correspondant indiqué dans le tableau :

Dilution calibre	1	2	3	4	5	6
Calibreur (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

Indicateurs de détérioration : La présence de particules et de turbidité.

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Bain -marie à 37°C.

- Spectrophotomètre ou photomètre avec cuvette thermostatable à 37°C pour des lectures à 340 nm (320-360 nm).

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

PROCÉDURE

1. Chauffer les réactifs et le photomètre (porte-cuvettes) à 37°C.

2. Conditions de l'essai :

Longueur d'onde : 340 nm

Température : 37°C

Passage de lumière de la cuvette : 1 cm

3. Ajuster le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.

4. Introduire la pipette dans une cuvette :

Réactif R1	800 µL
Échantillon ou calibreur	10 µL

5. Mélanger et lire l'absorbance (A₁) après l'ajout de l'échantillon.

6. Introduire la pipette dans la cuvette tout de suite après :

Réactif R2	200 µL
------------	--------

7. Mélanger et lire l'absorbance (A₂) exactement 2 minutes après avoir ajouté le réactif R2.

Spinreact dispose d'adaptations détaillées pour la plupart des analyseurs automatiques du marché. Veuillez contacter votre distributeur pour obtenir des informations.

CALCULS

Calculer la différence d'absorbances (A₂ - A₁) obtenues pour les différents calibreurs, et construire la courbe d'étalonnage des valeurs obtenues face aux concentrations d'IgM de chaque dilution du calibreur. La concentration d'IgM dans l'échantillon est calculée par interpolation de sa différence (A₂ - A₁) dans la courbe d'étalonnage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser des sérums de contrôle, afin de contrôler les essais aussi bien lors de procédures manuelles qu'automatiques. Spinreact dispose du PROT CONTROL cod : 1102004.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

VALEURS DE RÉFÉRENCE⁴

Entre 40 - 230 mg/dL. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

1. **Limite de linéarité:** jusqu'à 300 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai.

Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec NaCl 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.

2. **Limites de détection:** les valeurs en dessous de 1 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.

3. **Sensibilité:** Δ 2,4 mA / mg/dL (30 mg/dL).

4. **Effet prozone:** Aucun effet prozone n'a été observé jusqu'à des valeurs de > 2000 mg/dL.

5. **Précision:** Le réactif a été testé pendant 20 jours avec deux niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	68,67 mg/dL	143,3 mg/dL
Total	5,7%	2,8%
Pendant l'exécution	1,1%	0,7%
Entre l'exécution	3,8%	2,3%
Entre jours	4,2%	1,3%

6. **Exactitude:** Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec la méthode Elecsys de Roche. 100 échantillons de concentrations d'IgM entre 50 et 210 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,958 et l'équation de la droite de régression y = 0,974x + 1,296.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

La bilirubine (20 mg/dL), l'hémoglobine (10 g/L) et les lipides (5 g/L), n'interfèrent pas. Les facteurs rhumatoïdes peuvent interférer à des concentrations supérieures à 900 UI/mL. D'autres substances peuvent interférer^{5,6}.

REMARQUES

1. Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, mais doit également tenir compte des données cliniques du patient.

BIBLIOGRAPHIE

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRÉSENTATION

Réf : 1103024

Cont.

R1. Diluant : 1 x 40 mL

R2. Anticorps : 1 x 10 mL

Determinação quantitativa de imunoglobulina M (IgM)

IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Ensaio turbidimétrico para a quantificação de IgM no soro ou plasma humano.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti-IgM formam compostos insolúveis quando se combinam com a IgM da amostra do paciente, provocando uma alteração da absorvância proporcional à da concentração de IgM na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de IgM de concentração conhecida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A IgM é a única imunoglobulina que o recém nascido sintetiza. Nos adultos representa 5-10% do total de imunoglobulinas. A sua estrutura é pentamérica e o seu elevado peso molecular (900.000 daltons) evita a sua passagem para os espaços extravasculares.

A sua concentração fica diminuída em patologias relacionadas com deficiências hereditárias ou adquiridas da produção de imunoglobulinas. A resposta normal às infecções consiste em aumentar a produção de imunoglobulinas. A IgM geralmente aumenta nas infecções virais e infecções circulatórias como a malária e a cirrose biliar primária. Em caso de mieloma múltiplo, se a paraproteína for uma IgM, provavelmente trata-se de uma macroglobulinemia de Waldenström. As crioglobulinemias de origem monoclonal, são geralmente devidas a IgM.

REAGENTES

Solvente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticorpo (R2)	Suero de cabra, anti-IgM humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRAÇÃO

O ensaio está calibrado com o Material de Referência ERM-DA470k/IFCC. Deve utilizar-se o Calibrador PROT CAL para a Calibração. O reagente (tanto o monoreagente como o bireagente) devem ser re-calibrados em cada mês, quando os controlos estão fora das especificações, e quando o lote de reagente ou a configuração do equipamento muda.

PREPARAÇÃO

Reagentes: Prontos para utilização.

Curva de Calibração: Preparar as seguintes diluições do Calibrador PROT CAL em NaCl 9 g/L como diluente. Para obter as concentrações de cada diluição de IgM, multiplicar a concentração de IgM do calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada na embalagem quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8°C, e se evita a contaminação durante a utilização. Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo.

Indicadores de deterioração: Presença de partículas e turvação

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Diluente pode afectar a funcionalidade dos mesmos.

MATERIAL ADICIONAL

- Banho de água a 37°C.
- Espectrofotómetro ou fotómetro com cubete termostatzável a 37°C para leituras a 340 nm (320-360 nm).

AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes.

Estável por 7 dias a 2-8°C ou 3 meses a -20°C.

As amostras com restos de fibrina devem ser centrifugadas.

Não utilizar amostras altamente hemolisadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

1. Aquecer os reagentes e o fotómetro (portacubetes) a 37°C.
2. Condições do ensaio Longitude de comprimento de onda: 340 nm
Temperatura: 37°C
Passagem de luz da cubete: 1 cm
3. Ajustar o espectrofotómetro a zero frente a água destilada.

4. Pipetar para uma cubete:

Reagente R1	800 µL
Amostra ou Calibrador	10 µL

5. Agitar e ler a absorvância (A₁) depois da adição da amostra.

6. Imediatamente a seguir, pipetar para a cubete:

Reagente R2	200 µL
-------------	--------

7. Misturar e ler a absorvância (A₂) exactamente 2 minutos depois de adicionar o reagente R2.

Spinreact dispõe de adaptações detalhadas para a maioria de analisadores automáticos do mercado. Solicite a informação ao seu distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular a diferença de absorvâncias (A₂ - A₁) obtidas para os distintos calibradores, e construir a curva de calibração dos valores obtidos com as concentrações de IgM de cada diluição do Calibrador. A concentração de IgM na amostra calcula-se por interpolação da sua diferença (A₂-A₁) na curva de calibração.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização de soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como no automático. Spinreact dispõe do PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções no caso de os controlos não cumprirem com as tolerâncias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA⁴

Entre 40 - 230 mg/dL. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DO METODO

1. *Intervalo de medida:* até 300 mg/dL nas condições descritas do ensaio. As amostras com valores superiores devem ser diluídas a 1/5 com NaCl 9 g/L e novamente testadas. O intervalo de medida depende da relação amostra/reagente. Diminuindo o volume de amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medida, embora se reduza a sensibilidade.
2. *Limite de detecção:* valores abaixo de 1 mg/dL dão lugar a resultados pouco reprodutíveis.
3. *Sensibilidade:* Δ 2,4 mA / mg/dL (30 mg/dL).
4. *Efeito prozona:* Não se observa até valores > 2000 mg/dL.
5. *Precisão:* O reagente foi testado durante 20 dias com dois níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)	
	68.67 mg/dL	143.3 mg/dL
Total	5,7%	2,8%
Within Run	1,1%	0,7%
Between Run	3,8%	2,3%
Between Day	4,2%	1,3%

6. *Exactidão:* O comportamento deste método (y) foi comparado com o método

Elecsys de Roche. 100 amostras de concentrações de IgM entre 50 e 210 mg/dL foram analisadas com ambos os métodos. O coeficiente de regressão foi de 0,958 e a equação da reta de regressão y = 0,974x + 1,296.

As características do método podem variar segundo o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Hemoglobina (10 g/L), bilirrubina (20 mg/dL) e lípidos (5 g/L), não interferem. Os factores reumatóides podem interferir a concentrações superiores a 900 UI/mL. Outras substancias podem interferir ^{5,6}.

NOTAS

1. O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente com os resultados de um único ensaio, devendo considerar-se simultaneamente toda a informação clínica do doente.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
5. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1103024	Cont.	R1. solvente: 1 x 40 mL R2. Anticorpo : 1 x 10 mL
---------------	-------	--