

Immunoglobulin M

Turbidimetry

Quantitative determination of Immunoglobulin M (IgM) IVD

Store at 2 - 8°C.

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

| | |
|------------------------|--|
| R 1 Diluent | Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3. Preservative. |
| R 2 Antibody | Goat serum, anti-human IgM, pH 7.5. Preservative. |
| Optional | Ref: 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

- Spinlab 180 autoanalyzer
- Laboratory equipment.

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.

REFERENCE VALUES

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

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.

SPINLAB 180 APPLICATION

| | | | |
|-----------------|------------|------------------|-----------|
| Name | IgM | Ref. male low | 40 mg/dL |
| Abbr. Name | IgM | Ref. male high | 230 mg/dL |
| Mode | Twopoints | Ref. female low | 40 mg/dL |
| Wavelength | 340 nm | Ref. female high | 230 mg/dL |
| Units | mg/dL | Ref. Ped. Low | * |
| Decimals | 0 | Ref. Ped. High | * |
| Low Conc. | 1 mg/dL | Control 1 | * |
| High Conc. | 1000 mg/dL | Control 2 | * |
| Calibrator name | CAL PS | Control 3 | * |
| Prozone check | No | Correlat. factor | 1.000 |
| | | Correlat. offset | 0.000 |

| DUAL MODE | |
|---------------------|-------------|
| Sample blank | No |
| R1 bottle (mL) | 25 mL |
| normal volume | 240 µL |
| rerun volume | 240 µL |
| Sample | |
| normal volume | 3.0 µL |
| rerun volume | 3.0 µL |
| R2 bottle (mL) | 5 mL |
| normal volume | 60 µL |
| rerun volume | 60 µL |
| Predilución | No |
| Slope blank | No |
| Point one,two | -3.130 sec. |

| | |
|------------------|------------|
| Reagent blank | No |
| Low Absorbance | -0.100 Abs |
| High Absorbance | 3.000 Abs |
| R. Abs. L. Limit | -0.100 Abs |
| R. Abs. H. Limit | 3.000 Abs |
| Substr.Depletion | 3.000 Abs |

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 depends 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.

NOTES

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 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.

PRESENTATION

Ref: SP1103024 Cont. R1: 2 x 20 mL
R2: 2 x 5 mL

Determinación cuantitativa de Inmunoglobulina M (IgM)

IVD

Conservar a 2-8°C

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

| | |
|--------------------------|---|
| R 1 Diluyente | Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Conservante. |
| R 2 Anticuerpo | Suero de cabra, anti-IgM humana, pH 7,5. Conservante. |
| Opcional | Ref: 1102003 PROT CAL. |

CALIBRACIÓN

El ensayo está calibrado 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: Presencia de partículas y turbidez.

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

MATERIAL ADICIONAL

- Autoanalizador Spinlab 180
- Equipamiento habitual de laboratorio.

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.

VALORES DE REFERENCIA

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

CONTROL DE CALIDAD

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

APLICACIÓN AL SPINLAB 180

| | | | |
|-----------------------|-------------|-------------------|-----------|
| Nombre | IgM | Ref. Hombre Inf. | 40 mg/dL |
| Nombre abreviado | IgM | Ref. Hombre Sup. | 230 mg/dL |
| Modo | Twopoint | Ref. Mujer Inf. | 40 mg/dL |
| Long. ondas | 340 nm | Ref. Mujer Sup. | 230 mg/dL |
| Unidades | mg/dL | Ref. Ped. Inf. | * |
| Decimales | 0 | Ref. Ped. Sup. | * |
| Conc. Inferior | 1 mg/dL | Control 1 | * |
| Conc. Superior | 1000 mg/dL | Control 2 | * |
| Calibrador | CAL PS | Control 3 | * |
| Chequeo prozona | No | Factor correl. | 1.000 |
| | | Offset de correl. | 0.000 |
| MODO DUAL | | | |
| Blanco muestra | No | | |
| Frasco R1 (mL) | 25 mL | | |
| Vol. normal | 240 µL | | |
| Vol. repet. | 240 µL | | |
| Muestra | | | |
| Vol. normal | 3.0 µL | | |
| Vol. repet. | 3.0 µL | | |
| Frasco R2 (mL) | 5 mL | | |
| Vol. normal | 60 µL | | |
| Vol. repet. | 60 µL | | |
| Predilución | No | | |
| Pendiente Blco. | No | | |
| 1er, 2º punto | -3.130 sec. | | |
| Blanco reactivo | No | | |
| Absorbancia inf. | -0.100 Abs | | |
| Absorbancia sup. | 3.000 Abs | | |
| Lim. Inf. Abs. React. | -0.100 Abs | | |
| Lim. Sup. Abs. React. | 3.000 Abs | | |
| Agotam. sustrato | 3.000 Abs | | |

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 $y = 0,974x + 1,296$.

NOTAS

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: SP1103024

Cont.

R1: 2 x 20 mL

R2: 2 x 5 mL