

IgM MonlabTest®

Turbidimetría.



IVD

Determinación cuantitativa de Inmunoglobulina M (IgM)

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2-8°C.

USO RECOMENDADO

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

PRINCIPIO DEL MÉTODO

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, que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de IgM de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

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:	Multicalibrador Proteínas (MO-165044).

CALIBRACIÓN

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el Multicalibrador Proteínas MonlabTest 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.

PREPARACIÓN

Reactivos: Listos para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Multicalibrador Proteínas MonlabTest 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

CONSERVACIÓN 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 su funcionalidad.

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.

MONLAB dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de los analizadores automáticos del mercado.

CÁLCULOS

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 automático. MONLAB dispone del Multicontrol Proteínas MonlabTest (MO-165045). 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.

CARACTERÍSTICAS 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 reumatoides pueden interferir a concentraciones superiores a 900 UI/mL. Otras sustancias pueden interferir^{5,6}.

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.

BIBLIOGRAFÍA

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. AACCPres, 1997
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCPres, 1997.

PRESENTACIÓN

MO-165038

R1: 1 x 40 mL
R2: 1 x 10 mL

SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad



IgM MonlabTest®



Turbidimetry

Quantitative determination of Human Immunoglobulin M (IgM)

Only for professional *in vitro* diagnostic use. Store at 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	Multicalibrator Protein (MO-165044).

CALIBRATION

The assay is calibrated to the Reference Material ERM-DA470k/IFCC. It must be used the Multicalibrator Protein MonlabTest 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 Multicalibrator Protein MonlabTest 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 thermostable 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 light 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.

MONLAB 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. MONLAB provides Multicalibrator Protein MonlabTest (MO-165045). 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

- 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.
- Detection Limit:** Values less than 1 mg/dL give non-reproducible results.
- Prozone effect:** No prozone effect was detected upon 2000 mg/dL.
- Sensitivity:** Δ 2.4 mA. mg/dL at 30 mg/dL.
- Precision:** The reagent has been tested for 20 days, using two levels of serum in an 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%

- 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)² 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

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

BIBLIOGRAPHY

- 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 1966; 14: 401-406.
- 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.

PACKAGING

MO-165038

R1: 1 x 40 mL

R2: 1 x 10 mL

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS



Manufacturer



For *in vitro* diagnostic use only



Don't re-use



Consult instructions for use



Contains sufficient for <n> tests



Keep dry



Catalogue Code



Temperature limitation



Lot Number



Use by

