

**Método inmunturbidimétrico para la determinación de inmunoglobulina M****SIGNIFICACION CLINICA**

La determinación cuantitativa de IgM es necesaria en la tipificación de inmunodeficiencias y de mielomas. También es importante para el seguimiento de infecciones agudas.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La inmunoglobulina M reacciona con el anticuerpo específico formando inmunocomplejos insolubles. La turbidez provocada por estos inmunocomplejos es proporcional a la concentración de IgM en la muestra y puede medirse espectrofotométricamente.

REACTIVOS PROVISTOS

- A. Reactivo A:** solución fisiológica tamponada, pH 7,5.
B. Reactivo B: anticuerpo monoespecífico anti-IgM.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica.
- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro". Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección. Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica. Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

MUESTRA

Suero o plasma heparinizado

- Recolección:** obtener la muestra de la manera usual.
- Aditivos:** en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de heparina como anticoagulante.
- Sustancias interferentes conocidas:** no emplear sueros hemolizados o contaminados. No se observan interferencias por bilirrubina hasta 20 mg/dl, triglicéridos hasta 25 g/l ni hemoglobina hasta 1 g/dl.

Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: la muestra debe ser preferentemente fresca. Si el ensayo no puede ser realizado en el mismo día la muestra puede ser conservada 1 semana en refrigerador (2-10°C). En caso que se deba procesar en un período más largo de tiempo, conservarla a -20°C.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Cubetas espectrofotométricas de caras paralelas.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos de Kahn o hemólisis.
- Reloj o timer.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 340 nm
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente (25°C). El control de la temperatura no es crítico, pudiendo oscilar entre 22 y 30°C.
- Tiempo de reacción: 30 minutos

PROCEDIMIENTO**CURVA DE CALIBRACION**

Realizar en tubos de Kahn, las siguientes diluciones en solución fisiológica del Calibrador Proteínas nivel alto: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 y 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

Calibrador Proteínas diluido	60 ul
-------------------------------------	-------

Reactivo A	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar y leer la absorbancia de cada dilución a 340 nm (DO_1) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	100 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando el aparato a cero con agua destilada. Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada dilución del Calibrador Proteínas, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia ΔA en función de la concentración en mg/dl (g/l) del Calibrador Proteínas.

PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS

Realizar diluciones 1:10 de las Muestras en solución fisiológica.

Muestra diluida	60 ul
------------------------	-------

Reactivo A	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar y leer la absorbancia a 340 nm (DO_4) llevando el aparato a cero con agua destilada. Luego agregar:

Reactivo B	100 ul
-------------------	--------

Mezclar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Leer la absorbancia a 340 nm (DO_2), llevando el aparato a cero con agua destilada.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_4$) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta ΔA en la curva de calibración para determinar la concentración en mg/dl (g/l) correspondiente a la muestra estudiada.

Las muestras con absorbancias superiores a la del Calibrador Proteínas nivel alto deben ser diluidas 1:2 con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por dos.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Control Inmunológico nivel 1 o Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA de Wiener lab. El Control es procesado de la misma manera que las muestras.

VALORES DE REFERENCIA

Niños y jóvenes:

0-1 año: 0 - 145 mg/dl (0 - 1,45 g/l)

1-3 años: 19 - 146 mg/dl (0,19 - 1,46 g/l)

4-6 años: 24 - 210 mg/dl (0,24 - 2,10 g/l)

7-9 años: 32 - 208 mg/dl (0,32 - 2,08 g/l)

10-11 años: 31 - 180 mg/dl (0,31 - 1,80 g/l)

12-13 años: 35 - 239 mg/dl (0,35 - 2,39 g/l)

14-15 años: 15 - 188 mg/dl (0,15 - 1,88 g/l)

16-19 años: 23 - 259 mg/dl (0,23 - 2,59 g/l)

Adultos:

40 - 260 mg/dl (0,40 - 2,60 g/l).

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

$IgM (mg/dl) \times 10 = IgM (mg/l)$

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

En el caso de muestras con características clínicas no definidas, deberá realizarse una electroforesis de proteínas para detectar un eventual exceso de antígeno, como ocurre en las gammopatías.

La turbiedad y partículas en las muestras pueden interferir con la prueba. Por lo tanto, las partículas que puedan resultar de una coagulación incompleta o de una desnaturalización

de las proteínas, deben ser removidas por centrifugación antes de proceder a su ensayo.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando simultáneamente 20 replicados de una misma muestra, se obtiene:

Nivel	D.S.	C.V.
35,4 mg/dl	$\pm 1,54$ mg/dl	4,35 %
129 mg/dl	$\pm 3,82$ mg/dl	2,96 %
250 mg/dl	$\pm 6,26$ mg/dl	2,50 %

b) Rango dinámico: se pueden obtener valores entre la concentración de calibrador más baja y más alta de la curva de calibración (alrededor de 300 mg/dl).

c) Límite de detección: la mínima concentración cuantificable de IgM es 20 mg/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación consulte el manual del usuario del analizador en uso.

Para la calibración, se debe utilizar **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** de Wiener lab.

PRESENTACION

1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B
(Cód. 1513263)

1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B
(Cód. 1009345)

1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B
(Cód. 1009218)

1 x 60 ml Reactivo A









1 x 5 ml Reactivo B
(Cód. 1009653)


BIBLIOGRAFIA

- Ichihara, K. et al - J. Clin. Lab. Anal. 10:110 (1996).
- Itoh, Y. et al - J. Clin. Lab. Anal. 11:39 (1997).
- Maynard, Y. et al - Clin. Chem. 32/5:752 (1986).
- Dati, F - Journal of IFCC VIII/1:29 (1996).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

Símbolos

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

	Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"		Elaborado por:
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Nocivo
	Uso diagnóstico "in vitro"		Corrosivo / Cáustico
	Contenido suficiente para <n> ensayos		Irritante
	Fecha de caducidad		Consultar instrucciones de uso
	Límite de temperatura (conservar a)		Calibrador
	No congelar		Control
	Riesgo biológico		Control Positivo
	Volumen después de la reconstitución		Control Negativo
	Contenido		Número de catálogo
	Número de lote		

 Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. N°: 3009/98

 **Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina