

**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_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.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcular la diferencia de absorbancia ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) 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) x 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	± 1,54 mg/dl	4,35 %
129 mg/dl	± 3,82 mg/dl	2,96 %
250 mg/dl	± 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)

1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B
(Cód. 1009963)*

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.

**Método imunoturbidimétrico para a determinação de imunoglobulina M****SIGNIFICADO CLÍNICO**

A determinação quantitativa de IgM é necessária na tipagem de imunodeficiências e de mielomas.

Também é muito importante para o seguimento de infecções agudas.

FUNDAMENTOS DO MÉTODO

A imunoglobulina M reage com o anticorpo específico formando imunocomplexos insolúveis.

A turbidez produzida pelos imunocomplexos é proporcional à concentração de IgM na amostra e pode ser lida com espectrofotômetro.

REAGENTES FORNECIDOS

A. Reagente A: solução fisiológica tamponada, pH 7,5.

B. Reagente B: anticorpo monoespecífico anti-IgM.

REAGENTES NÃO FORNECIDOS

- Solução fisiológica.

- **Calibrador Proteínas nível alto Turbitest AA** da Wiener lab.

INSTRUÇÕES DE USO

Reagentes Fornecidos: prontos para uso.

PRECAUÇÕES

Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".

Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se tratando de material infectante.

Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análises clínicas.

Todos os reagentes e as amostras devem ser descartadas conforme à regulação local vigente.

ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Reagentes Fornecidos: estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data do vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

AMOSTRA

Soro ou plasma com heparina

a) Coleta: obter a amostra da maneira habitual.

b) Aditivos: caso que a amostra a ser analisada seja plasma, recomenda-se o uso de heparina como anticoagulante.

c) Substâncias interferentes conhecidas: não utilizar soros hemolisados ou contaminados. Não se observam interferências por bilirrubina até 20 mg/dl, triglicerídeos até 25 g/l nem hemoglobina até 1 g/dl.

Referência bibliográfica de Young para efeitos de drogas neste método.

d) Estabilidade e instruções de armazenamento: a amostra deve ser preferivelmente fresca. Caso que o ensaio não seja realizado no mesmo dia, a amostra pode ser conservada 1 semana sob refrigeração (2-10°C). Caso que deva-se processar num período maior a amostra será conservada a -20°C.

MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Espectrofotômetro.

- Cubetas espectrofotométricas de faces paralelas.

- Micropipetas e pipetas para medir os volumes indicados.

- Tubos de Kahn ou hemólise.

- Relógio ou timer.

CONDIÇÕES DE REAÇÃO

- Comprimento de onda: 340 nm

- Temperatura de reação: temperatura ambiente (25°C). O controle da temperatura não é crítico, podendo oscilar entre 22 e 30°C.

- Tempo de reação: 30 minutos

PROCEDIMENTO**CURVA DE CALIBRAÇÃO**

Realizar em tubos de Kahn, as seguintes diluições em solução fisiológica do Calibrador Proteínas nível alto: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

Calibrador Proteínas diluído	60 ul
-------------------------------------	-------

Reagente A	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar e ler a absorvância de cada diluição a 340 nm (DO_1) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	100 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorvância a 340 nm (DO_2) zerando o aparelho com água destilada. Calcular a diferença de absorvância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) para cada diluição do Calibrador Proteínas, incluindo o ponto zero.

Representar numa folha de papel marcada com milímetros as diferenças de absorvância ΔA em função da concentração em mg/dl (g/l) do Calibrador Proteínas.

PROCEDIMENTO PARA AMOSTRAS

Realizar diluições 1:10 das Amostras em solução fisiológica.

Amostra diluída	60 ul
------------------------	-------

Reagente A	900 ul
-------------------	--------

Homogeneizar e ler a absorbância de cada diluição a 340 nm (DO₁) zerando o aparelho com água destilada. Após adicionar:

Reagente B	100 ul
-------------------	--------

Misturar e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Ler a absorbância a 340 nm (DO₂) zerando o aparelho com água destilada.

CÁLCULOS DOS RESULTADOS

Calcular a diferença de absorbância ($\Delta A = DO_2 - DO_1$) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolando os dados ΔA na curva de calibração para determinar a concentração em mg/dl (g/l) que corresponde à amostra estudada. As amostras com absorbância superior à do Calibrador Proteínas nível alto devem ser diluídas 1:2 com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos por dois.

MÉTODO DE CONTROLE DE QUALIDADE

Control Inmunológico nível 1 ou **Control Inmunológico nível 2 Turbitest AA** de Wiener lab. O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

VALORES DE REFERÊNCIA

Crianças e jovens:

0-1 ano: 0 - 145 mg/dl (0 - 1,45 g/l)

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

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

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

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

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

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

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

Adultos:

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

Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

CONVERSÃO DE UNIDADES AO SISTEMA SI

IgM (mg/dl) x 10 = IgM (mg/l)

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Caso que as amostras tenham características clínicas não definidas, deverá realizar-se uma electroforese de proteínas para detectar um eventual excesso de antígeno, como ocorre nas gamapatias.

A turbidez e partículas nas amostras podem interferir com a prova. Por tal motivo, as partículas que possam resultar de uma coagulação incompleta ou de uma desnaturação das

proteínas devem ser removidas pela centrifugação antes de proceder ao ensaio.

DESEMPENHO

a) Reprodutibilidade: processando no mesmo tempo 20 duplicatas de uma mesma amostra, obteve-se:

Nível	D.P.	C.V.
35,4 mg/dl	± 1,54 mg/dl	4,35 %
129 mg/dl	± 3,82 mg/dl	2,96 %
250 mg/dl	± 6,26 mg/dl	2,50 %

b) Faixa dinâmica: podem-se obter valores entre a concentração do calibrador mais baixa e mais alta da curva de calibração (envolta de 300 mg/dl).

c) Limite de detecção: a mínima concentração quantificável de IgM é 20 mg/dl.

PARÂMETROS PARA ANALISADORES AUTOMÁTICOS

Vide as adaptações específicas para cada tipo de analisador. Para a calibração, deve-se utilizar **Calibrador Proteínas nível alto** da Wiener lab.

APRESENTAÇÃO

1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1513263)

1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009345)

1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009218)

1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009653)

1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1009963)*

REFERÊNCIAS

- 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.



IgM

Immunoturbidimetric method for the determination of immunoglobulin M

SUMMARY

The quantitative determination of IgM is needed for typify immunodeficiencies and myelomas, as well as for the follow-up of acute infections.

PRINCIPLE

The immunoglobulin M reacts with specific antibody generating insoluble immune complexes. The turbidity produced by these immune complexes is proportional to the IgM concentration in the sample and can be measured spectrophotometrically.

PROVIDED REAGENTS

A. Reagent A: buffered saline solution, pH 7.5.

B. Reagent B: antibody monospecific anti-IgM.

NON-PROVIDED REAGENTS

- Saline solution

- Wiener lab.'s **Calibrador Proteínas Nivel Alto Turbitest AA**.

INSTRUCTIONS FOR USE

Provided Reagents: ready to use.

WARNINGS

Reagents are for "in vitro" diagnostic use.

All samples from patients should be handled as capable of transmitting infection.

Use the reagents according to the working procedures for clinical laboratories.

The reagents and samples should be discarded according to the local regulations in force.

STABILITY AND STORAGE INSTRUCTIONS

Provided Reagents: stable at 2-10°C until the expiration date stated on the box. Do not freeze.

SAMPLE

Serum or heparinized plasma

a) Collection: obtain in the usual way.

b) Additives: if plasma is used, it is recommended to use heparin as anticoagulant.

c) Known interfering substances:

- Do not use contaminated or hemolyzed sera.

- No interferences have been observed with bilirubin up to 20 mg/dl, triglycerides up to 25 g/l and hemoglobin up to 1 g/dl.

See Young, D.S. in References for effect of drugs on the present method.

d) Stability and storage instructions: sample should be preferably fresh. In case the test cannot be performed on the day, the sample can be store for up to 1 week at 2-10°C. In case the test cannot be performed within this period, it should be immediately stored at -20°C.

REQUIRED MATERIAL (non-provided)

- Spectrophotometer.

- Spectrophotometric cuvettes.

- Micropipettes and pipettes for measuring the stated volumes

- Kahn or hemolysis tubes.

- Stopwatch.

ASSAY CONDITIONS

- Wavelength: 340 nm

- Reaction temperature: room temperature (25°C). Temperature control is not critical, it can range between 22 and 30°C.

- Reaction time: 30 minutes

PROCEDURE

CALIBRATION CURVE

In Kahn tubes dilute the Calibrador Proteínas Nivel Alto with saline solution 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160, using saline solution as the zero point.

Diluted Calibrador Proteínas	60 ul
-------------------------------------	-------

Reagent A	900 ul
------------------	--------

Homogenize and measure absorbance of each dilution at 340 nm (OD₁), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

Reagent B	100 ul
------------------	--------

Mix and incubate 30 minutes at room temperature. Measure absorbance at 340 nm (OD₂), setting the instrument to zero with distilled water.

Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each Calibrador Proteínas dilution, including the zero point.

Draw on graph paper the ΔA absorbance differences based on the Calibrador Proteínas concentration in mg/dl (g/l).

SAMPLES PROCEDURE

Dilute the samples 1:10 with saline solution.

Diluted Sample	60 ul
-----------------------	-------

Reagent A	900 ul
------------------	--------

Homogenize and measure the absorbance at 340 nm (OD₁), setting the instrument to zero with distilled water. Then, add:

Reagent B	100 ul
------------------	--------

Mix and incubate 30 minutes at room temperature. Measure the absorbance at 340 nm (OD₂), setting the instrument to zero with distilled water.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) for each sample tested. Interpolate this ΔA in the calibration curve to determine the concentration in mg/dl (g/l) corresponding to the sample under study. Samples with absorbance values higher than the absorbance measurement for **Calibrador Proteínas nivel alto** should be diluted 1:2 with saline solution and retested. Multiply the obtained result by 2.

QUALITY CONTROL METHOD

Wiener lab.'s **Control Inmunológico nivel 1** or **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA**.

The Control should be processed in the same manner as samples.

REFERENCE VALUES

Children and young people:

0-1 year: 0 - 145 mg/dl (0 - 1.45 g/l)

1-3 years: 19 - 146 mg/dl (0.19 - 1.46 g/l)

4-6 years: 24 - 210 mg/dl (0.24 - 2.10 g/l)

7-9 years: 32 - 208 mg/dl (0.32 - 2.08 g/l)

10-11 years: 31 - 180 mg/dl (0.31 - 1.80 g/l)

12-13 years: 35 - 239 mg/dl (0.35 - 2.39 g/l)

14-15 years: 15 - 188 mg/dl (0.15 - 1.88 g/l)

16-19 years: 23 - 259 mg/dl (0.23 - 2.59 g/l)

Adults:

40 - 260 mg/dl (0.40 - 2.60 g/l)

Each laboratory should set its own reference values.

SI SYSTEM UNITS CONVERSION

IgM (mg/dl) x 10 = IgM (mg/l)

PROCEDURE LIMITATIONS

If samples have no definite clinical characteristics, a protein electrophoresis should be performed to detect an unexpected antigen excess, as it happens in gammopathies.

Turbidity and particles in the sample may interfere with the test. Therefore, the particles that could be the result of an incomplete coagulation or protein denaturalization must be removed by centrifugation before testing the sample.

PERFORMANCE

a) **Reproducibility:** simultaneously processing 20 replicates of one sample, the following results were obtained:

Level	S.D.	C.V.
35.4 mg/dl	± 1.54 mg/dl	4.35 %
129 mg/dl	± 3.82 mg/dl	2.96 %
250 mg/dl	± 6.26 mg/dl	2.50 %

b) **Dynamic range:** values can be obtained between the lowest and highest calibrator concentrations of the calibration curve (approximately 300 mg/dl).

c) **Detection limit:** the minimum detectable concentration change of IgM is 20 mg/dl.

PARAMETERS FOR AUTOANALYZERS

Refer to the specific applications of each autoanalyzer. For calibration must be use Wiener lab's **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** following the autoanalyzer requirements.

WIENER LAB. PROVIDES

1 x 60 ml Reagent A

1 x 5 ml Reagent B

(Cat. 1513263)

1 x 60 ml Reagent A

1 x 5 ml Reagent B

(Cat. 1009345)

1 x 60 ml Reagent A

1 x 5 ml Reagent B

(Cat. 1009218)

1 x 60 ml Reagent A

1 x 5 ml Reagent B

(Cat. 1009653)

1 x 60 ml Reagent A

1 x 5 ml Reagent B

(Cat. 1009963)*

REFERENCES

- 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.

- Pressac, M. - Ann. Biol. Clin. 41:315, 1983.

- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.



Nr kat. 1513263 Nr kat. 1009653
 Nr kat. 1009345 Nr kat. 1009963
 Nr kat. 1009218

IgM

Immunoturbidymetryczna metoda do oznaczania ilościowego immunoglobuliny M

WSTĘP

Ilościowe oznaczanie IgM wykorzystuje się do określania niedoborów immunologicznych i szpiczaka mnogiego jak również obserwacji ostrego zakażenia.

ZASADA DZIAŁANIA

Immunoglobulina M reaguje ze specyficznym przeciwciałem tworząc nierozpuszczalny kompleks immunologiczny. Zmętnienie powstające w tym procesie jest wprost proporcjonalne do stężenia IgM w badanym materiale i może być mierzone spektrofotometrycznie.

DOSTARCZANE ODCZYNNIKI

A. Odczynnik A: buforowany roztwór soli fizjologicznej, pH 7,5.

B. Odczynnik B: monospecyficzne przeciwciało przeciw IgM.

NIEDOSTARCZANE ODCZYNNIKI

- Roztwór soli fizjologicznej

- **Calibrador Proteínas nivel alto Turbitest AA** Wiener lab.

INSTRUKCJA UŻYCIA

Dostarczane odczynniki: gotowe do użycia.

OSTRZEŻENIA

Odczynniki diagnostyczne do zastosowania "in vitro". Każdy materiał badany pobrany od pacjenta powinien być traktowany jako potencjalnie zakaźny. Stosować odczynniki zgodnie z procedurami dla laboratoriów klinicznych.

Odczynniki i materiał badany odrzucać zgodnie z lokalnymi przepisami.

TRWAŁOŚĆ I WARUNKI PRZECHOWYWANIA

Dostarczane odczynniki: trwałe w lodówce (2-10°C) do końca daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Nie zamrażać.

MATERIAŁ BADANY

Surowica krwi lub osocze heparynizowane

a) Pobranie: pobrać w klasyczny sposób.

b) Substancje dodatkowe: jeśli materiałem jest osocze zaleca się zastosowanie heparyny jako antykoagulantu.

c) Znane interakcje:

- Nie stosować zanieczyszczonej lub hemolizowanej surowicy krwi.

- Nie obserwowano żadnych interakcji do poziomu bilirubiny 20 mg/dl, z trójglicerydami do 25 g/l, hemoglobina do 1 g/dl. Zobacz źródło: Young, D.S. w sprawie wpływu leków w tej metodzie.

d) Trwałość i instrukcja przechowywania: próbka powinna być świeża. Jeżeli badanie nie może być wykonane tego samego dnia, próbkę można przechowywać do tygodnia w lodówce (2-10°C). W przypadku gdy analiza musi być przeprowadzona w późniejszym czasie należy przechowywać próbkę zamrożoną -20°C.

WYMAGANE MATERIAŁY I SPRZĘT (niedostarczane)

- Spektrofotometr.
- Kuwety spektrofotometryczne.
- Mikropipety i pipety do pomiaru określonej objętości.
- Probówki Kahna lub do hemolizy.
- Stoper.

WARUNKI DLA PRZEPROWADZENIA TESTU

- Długość fali: 340 nm
- Temperatura reakcji: temperatura pokojowa (25°C). Temperatura nie jest krytyczna dla reakcji, może się wahać pomiędzy 22 a 30°C.
- Czas reakcji: 30 minut

PROCEDURA

KRZYWA KALIBRACJI

W probówkach Kahna rozpuścić Calibrador Proteínas nivel alto z solą fizjologiczną w stosunku 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 i 1:160, używając roztworu soli fizjologicznej jako punkt zerowy.

Rozcieńczony Calibrador Proteínas	60 ul
--	-------

Odczynnik A	900 ul
--------------------	--------

Homogenizować i odczytać absorbancję każdego rozcieńczenia przy 340 nm (OD_1), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać:

Odczynnik B	100 ul
--------------------	--------

Zamieszać i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej. Odczytać absorbancję przy 340 nm (OD_2), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Obliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdego rozcieńczenia Calibrador Proteínas łącznie z punktem zero. Narysować na papierze milimetrowym uzyskane różnice ΔA absorbancji w odniesieniu do stężenia Calibrador Proteínas w mg/dl (g/l).

PROCEDURA DLA MATERIAŁU BADANEGO

Rozcieńczyć próbki 1:10 solą fizjologiczną.

Rozcieńczony materiał badany	60 ul
Odczynnik A	900 ul
Homogenizować i odczytać absorbancję przy 340 nm (OD ₁), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej. Następnie dodać:	
Odczynnik B	100 ul
Zamieszać i inkubować 30 minut w temperaturze pokojowej. Odczytać absorbancję przy 340 nm (OD ₂), ustawiając aparat na zero na wodzie destylowanej.	

OBLICZENIA

Obliczyć różnicę absorbancji ($\Delta A = OD_2 - OD_1$) dla każdej badanej próbki materiału. Nanieść tę ΔA na krzywą kalibracji celem wyznaczenia stężenia w mg/dl (g/l) odpowiadającego każdej badanej próbce. Materiał badany o absorbancji powyżej Calibrador Proteínas nivel alto należy rozcieńczyć 1:2 solą fizjologiczną i powtórzyć badanie. Pomnożyć otrzymane wyniki przez 2.

METODA KONTROLI JAKOŚCI

Control Inmunológico nivel 1 lub **Control Inmunológico nivel 2 Turbitest AA** Wiener lab.

Procedura dla Próby kontrolnej jest dokładnie taka sama jak dla materiału nieznanego.

WARTOŚCI REFERENCYJNE

Dzieci i młodzież:

- 0-1 rokiem: 0 - 145 mg/dl (0 - 1,45 g/l)
- 1-3 rokiem: 19 - 146 mg/dl (0,19 - 1,46 g/l)
- 4-6 rokiem: 24 - 210 mg/dl (0,24 - 2,10 g/l)
- 7-9 rokiem: 32 - 208 mg/dl (0,32 - 2,08 g/l)
- 10-11 rokiem: 31 - 180 mg/dl (0,31 - 1,80 g/l)
- 12-13 rokiem: 35 - 239 mg/dl (0,35 - 2,39 g/l)
- 14-15 rokiem: 15 - 188 mg/dl (0,15 - 1,88 g/l)
- 16-19 rokiem: 23 - 259 mg/dl (0,23 - 2,59 g/l)

Dorośli:

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

Zaleca się dla każdego laboratorium ustalenie własnych wartości referencyjnych.

KONWERSJA JEDNOSTEK SI

IgM (mg/dl) x 10 = IgM (mg/l)

OGRANICZENIA PROCEDURY

Jeżeli nie podano klinicznego opisu badanego materiału należy przeprowadzić elektroforezę celem wykrycia nadmiaru antygenu, który może mieć miejsce w gammopatiach.

Zmętnienie lub cząstki w materiale badanym mogą wpływać na test. Takie cząstki mogą być wynikiem niepełnego krzepnięcia lub denaturalizacji białek i należy je usunąć przez odwirowanie przed badaniem próbki.

CHARAKTERYSTYKA TESTU

a) **Powtarzalność:** równocześnie wykonano 20 powtórzeń tes-

tu jednego materiału badanego, otrzymano następujące wyniki:

Poziom	S.D.	C.V.
35,4 mg/dl	± 1,54 mg/dl	4,35 %
129 mg/dl	± 3,82 mg/dl	2,96 %
250 mg/dl	± 6,26 mg/dl	2,50 %

b) Zakres dynamiczny: otrzymane wartości mogą zawierać się pomiędzy najniższą i najwyższą wartością na krzywej kalibracji (około 300 mg/dl).

c) Granica wykrywalności: najmniejsza wykrywalna zmiana stężenia IgM wynosi 20 mg/dl.

PARAMETRY DLA ANALIZATORÓW AUTOMATYCZNYCH

Należy zapoznać się ze specyfikacją danego analizatora automatycznego.

Do kalibracji zastosować Calibrador A plus Wiener lab., zgodnie ze specyfikacją analizatora automatycznego.

WIENER LAB. DOSTARCZA

1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1513263)

1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009345)

1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009218)

1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009653)

1 x 60 ml Odczynnik A

1 x 5 ml Odczynnik B

(Nr kat. 1009963)

ŹRÓDŁA

- 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 // SÍMBOLOS // SYMBOLS // OZNACZENIA

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab. // Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab. // The following symbols are used in the packaging for Wiener lab. diagnostic reagents kits. // Następujące symbole są zastosowane na opakowaniach zestawów odczynników diagnostycznych.

 Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro" // Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro" // This product fulfills the requirements of the European Directive 98/79 EC for "in vitro" diagnostic medical devices // Ten produkt spełnia wymagania Dyrektywy Europejskiej 98/79 EC dla wyrobów medycznych używanych do diagnozy "in vitro"

 Representante autorizado en la Comunidad Europea // Representante autorizado na Comunidade Europeia // Authorized representative in the European Community // Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej

 Uso diagnóstico "in vitro" // Uso médico-diagnóstico "in vitro" // "In vitro" diagnostic medical device // Wyrób do diagnostyki "in vitro"

 Contenido suficiente para <n> ensayos // Conteúdo suficiente para <n> testes // Contains sufficient for <n> tests // Zawartość wystarczająca dla <n> badań

 Fecha de caducidad // Data de validade // Use by // Użyć przed

 Límite de temperatura (conservar a) // Limite de temperatura (conservar a) // Temperature limitation (store at) // Ograniczenie dopuszczalnych temperatur

 No congelar // Não congelar // Do not freeze // Nie zamrażać

 Riesgo biológico // Risco biológico // Biological risks // Ryzyko biologiczne

 Volumen después de la reconstitución // Volume após a reconstituição // Volume after reconstitution // Objętość po rozpuszczeniu

 Contenido // Conteúdo // Contents // Zawartość

 Número de lote // Número de lote // Batch code // numer serii

 Elaborado por // Elaborado por // Manufactured by // Wytwórca

 Nocivo // Nocivo // Harmful // Substancja szkodliwa

 Corrosivo / Cáustico // Corrosivo / Caústico // Corrosive / Caustic // Substancja żrąca

 Irritante // Irritante // Irritant // Substancja drażniąca

 Consultar instrucciones de uso // Consultar as instruções de uso // Consult instructions for use // Przed użyciem zapoznać się z instrukcją

 Calibrador // Calibrador // Calibrator // Kalibrator

 Control // Controle // Control // Próba kontrolna

 Control Positivo // Controle Positivo // Positive Control // Próba kontrolna dodatnia

 Control Negativo // Controle Negativo // Negative Control // Próba kontrolna ujemna

 Número de catálogo // Número de catálogo // Catalog number // Numer katalogowy

 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