



#### Finalidade

Método imunoturbidimétrico para a determinação de imunoglobulina M, para uso diagnóstico *in vitro*.

#### 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.

- **Protein Calibrator** da Laborlab.

#### Instruções de uso

**Reagentes Fornecidos:** prontos para uso.

#### Precauções

Os reagentes são para uso diagnóstico *in vitro*, destinado ao uso por profissionais treinados.

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 descartados conforme a 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:** quando for utilizado plasma, recomenda-se o uso de heparina como anticoagulante.

**c) Estabilidade e instruções de armazenamento:** a amostra deve ser preferivelmente fresca. Caso o ensaio não seja realizado no mesmo dia, a amostra pode ser conservada 1 semana sob refrigeração (2-10°C). Para um período maior a amostra deve ser conservada a -20°C.

#### Interferências

Não utilizar soros hemolisados ou contaminados. Não são observadas 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.

#### 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 Protein Calibrator: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80 e 1:160 utilizando solução fisiológica como ponto zero.

|                            |        |
|----------------------------|--------|
| Protein Calibrator diluído | 60 ul  |
| Reagente A                 | 900 ul |

Homogeneizar e ler a absorbância 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 absorbância a 340 nm ( $DO_2$ ) zerando o aparelho com água destilada. Calcular a diferença de absorbância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) para cada diluição do Protein Calibrator, incluindo o ponto zero. Representar numa folha de papel milimetrado as diferenças de absorbância  $\Delta A$  em função da concentração em mg/dl (g/l) do Protein Calibrator.

##### 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 ( $DO_1$ ) 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 ( $DO_2$ ) zerando o aparelho com água destilada.

Exemplo:

Curva de calibração

|              | Valor teórico | $DO_1$ | $DO_2$ | $\Delta A (DO_2 - DO_1)$ |
|--------------|---------------|--------|--------|--------------------------|
| Calibrador 0 | 0,00          | 0,089  | 0,091  | 0,002                    |
| Calibrador 1 | 367           | 0,115  | 0,149  | 0,034                    |
| Calibrador 2 | 489           | 0,117  | 0,175  | 0,058                    |
| Calibrador 3 | 734           | 0,118  | 0,202  | 0,084                    |
| Calibrador 4 | 1467          | 0,115  | 0,249  | 0,134                    |
| Calibrador 5 | 2934          | 0,117  | 0,331  | 0,214                    |

##### Cálculos dos resultados

Calcular a diferença de absorbância ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) que corresponde a cada amostra analisada. Interpolar os dados  $\Delta A$  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 Protein Calibrator devem ser diluídas 1:2 com solução fisiológica e processadas novamente. Multiplicar os resultados obtidos por dois.

##### Método de controle de qualidade

**Immunology Control Level 1** da Laborlab.

O controle é processado da mesma maneira que as amostras.

##### Valores de referência

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

Os valores de referência apresentados são apenas orientativos. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus próprios intervalos de referência de acordo com sua população atendida.

##### Conversão de unidades ao sistema SI

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

### Limitações do procedimento

Vide "Interferências".

Caso as amostras tenham características clínicas não definidas, deverá ser realizada uma electroforese de proteínas para detectar um eventual excesso de antígeno, como ocorre nas gamopatias.

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 ser obtidos valores entre a menor e maior concentração do calibrador na curva de calibração (por volta 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 ser utilizado **Protein Calibrator** da Laborlab.

### Apresentação

1 x 30 ml Reagente A

1 x 2,5 ml Reagente B

(Cód. 1770450)

1 x 60 ml Reagente A

1 x 5 ml Reagente B

(Cód. 1779653)

### 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", AACCPress, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

## SÍMBOLOS



Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Conteúdo suficiente para <n> testes



Data de validade



Limite de temperatura (conservar a)



Não congelar



Risco biológico



Volume após da reconstituição



Conteúdo



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar as instruções de uso



Calibrador



Controle



Controle Positivo



Controle Negativo



Número de catálogo

### Termo de garantia

Este Kit como um todo tem garantia de troca, desde que esteja dentro do prazo de validade e seja comprovado pelo Departamento Técnico da Laborlab Produtos para Laboratórios Ltda. que não houve falhas técnicas na execução e manuseio deste kit, assim como em sua conservação.



Produtos para Laboratórios Ltda.  
Estrada do Capão Bonito, 489  
Guarulhos - SP- Brasil - CEP: 07263-010  
CNPJ: 72.807.043/0001-94  
Atendimento ao cliente:  
+55 (11) 2480 0529/+55 (11) 2499 1277  
sac@laborlab.com.br  
www.laborlab.com.br



## Fin y uso

Método inmunoturbidimétrico para la determinación de inmunoglobulina M

## Significación clínica

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 método

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.

- Protein Calibrator de Laborlab.

## 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

**a) Recolección:** obtener la muestra de la manera usual.

**b) Aditivos:** en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de heparina como anticoagulante.

**c) 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 reacción

- 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 Protein Calibrator: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 y 1:160, empleando solución fisiológica como punto cero.

|                            |        |
|----------------------------|--------|
| Protein Calibrator 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 Protein Calibrator, incluyendo el punto cero.

Representar en papel milimetrado las diferencias de absorbancia  $\Delta A$  en función de la concentración en mg/dl (g/l) del Protein Calibrator.

## 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.

## Cálculo de los resultados

Calcular la diferencia de absorbancia ( $\Delta A = DO_2 - DO_1$ ) correspondiente a cada muestra analizada. Interpolar esta  $\Delta A$  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 Protein Calibrator deben ser diluidas 1:2 con solución fisiológica y procesadas nuevamente. Multiplicar el resultado obtenido por dos.

Ejemplo:

Curva de calibración

|              | Valor teórico | $DO_1$ | $DO_2$ | $\Delta A (DO_2 - DO_1)$ |
|--------------|---------------|--------|--------|--------------------------|
| Calibrador 0 | 0,00          | 0,089  | 0,091  | 0,002                    |
| Calibrador 1 | 367           | 0,115  | 0,149  | 0,034                    |
| Calibrador 2 | 489           | 0,117  | 0,175  | 0,058                    |
| Calibrador 3 | 734           | 0,118  | 0,202  | 0,084                    |
| Calibrador 4 | 1467          | 0,115  | 0,249  | 0,134                    |
| Calibrador 5 | 2934          | 0,117  | 0,331  | 0,214                    |

## Método de control de calidad

**Immunology Control Level 1** de Laborlab. El Control es procesado de la misma manera que las muestras.

## Valores de referencia

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

Cada laboratorio debe establecer sus propios valores de referencia.

## Conversión 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 | ± 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.

## Parámetros para analizadores automáticos

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

Para la calibración, se debe utilizar **Protein Calibrator** de Laborlab.

## Presentación

1 x 30 ml Reactivo A

1 x 2,5 ml Reactivo B

(Cód. 1770450)

1 x 60 ml Reactivo A

1 x 5 ml Reactivo B

(Cód. 1779653)

## Bibliografía

- 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, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

## SIMBOLOS



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Uso diagnóstico "in vitro"



Contenido suficiente para <n> ensayos



Fecha de caducidad



Límite de temperatura (conservar a)



No congelar



Riesgo biológico



Volumen después de la reconstitución



Contenido



Número de lote



Elaborado por:



Nocivo



Corrosivo / Cáustico



Irritante



Consultar instrucciones de uso



Calibrador



Control



Control Positivo



Control Negativo



Número de catálogo