

IgM (Inmunoglobulina M)

Turbidimetría

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE INMUNOGLOBULINA M (IgM)

IVD

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, y 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:	PROT CAL REACTIVA SEARCH

CALIBRACIÓN

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia ERM-DA470k/IFCC. Debe utilizarse el **PROT CAL REACTIVA SEARCH** para la calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como birectivo) 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 **PROT CAL REACTIVA SEARCH** 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: Presencia de partículas y turbidez.

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

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.

- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable 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.

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 en automático. **REACTIVA SEARCH** dispone del Multi RS Control.

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 REFERENCIA.

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

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

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.

Límite de detección: valores por debajo de 1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.

Sensibilidad: Δ 2.4 mA/mg/dL (30 mg/dL).

Efecto prozona: No se observa hasta valores de > 2000 mg/dL.

Precisión: El reactivo ha sido probado durante 20 días con dos niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EPS	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%

Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado 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 (r) 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

Bilirubina (20 mg/dL), hemoglobina (10 g/L) y los lípidos (5 g/L), no interfieren. Los factores reumatoideos pueden interferir a concentraciones superiores a 900 UI/mL. Otras sustancias pueden interferir.

NOTAS

1. 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

- 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.

PRESENTACIÓN

CON	R1. Diluyente: 1 x 40 mL
	R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL