ИММУНОГЛОБУЛИН M (Immunoglobulin IgM) 1103024

Турбидиметрический метод для определения иммуноглобулина M (IgM) в сыворотке.

IVD (для диагностики in vitro) Хранить при 2–8°C.

Код: 1103024 1x40 мл буфер, 1x10 мл антисыворотка

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Тест IgM – турбидиметрический метод для количественного определения иммуноглобулина M (IgM) в сыворотке или плазме человека.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Определение человеческих иммуноглобулинов M (IgM) основано на реакции между иммуноглобулином (антиген) и специфической антисывороткой (антитело). В результате этой реакции формируются нерастворимые комплексы, повышающие мутность раствора, которая измеряется спектрофотометрически (турбидиметрический метод) при длине волны 340 нм.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

IgM – это иммуноглобулин, который нормально синтезируется только у новорожденных, а у взрослых составляет примерно 5–10% всех иммуноглобулинов сыворотки. Его структура представляет собой пентамер из пяти молекул IgG, и его высокий молекулярный вес (900.000 дальтон) препятствует его пассажу во внесосудистое пространство. Концентрация IgM снижена при заболеваниях, связанных с врожденным или приобретенным дефицитом продукции иммуноглобулинов. Повышение поликлональных иммуноглобулинов в сыворотке – это нормальный ответ на инфекции. IgM обычно повышается при первичном ответе на вирусные инфекции и инфекции крови, такие как малярия и первичный билиарный цирроз. При множественной миеломе, если парапортеины представлены IgM, диагноз вероятно – макроглобулинемия Вальденстрема.

РЕАГЕНТЫ

R1 дилюент	ТРИС-буфер 20ммоль/л, ПЭГ 8000, pH 8,2. Азид натрия 0,95 г/л.
R2 антитела	Козья сыворотка, Антитела к человеческому IgM, pH 7.5. Азид натрия 0,95 г/л.
Дополнительно: не входит в набор	Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

КАЛИБРОВКА

Тест был стандартизован по Референсному Материалу CRM 470/RPPHS (Институт Референсных Материалов и Измерений, IRMM). Для калибровки рекомендуется использовать Калибратор протеинов (PROT CAL), кат.№ 1102003.

ПОДГОТОВКА

Реагенты: готовы к использованию.

Калибровочная кривая: Подготовьте следующие разведения калибратора протеинов в физрастворе (NaCl 9г/л). Умножьте концентрацию гаптоглобина в калибраторе на соответствующий коэффициент, приведенный в таблице, для получения концентрации IgM каждого разведения.

Стандарты	1	2	3	4	5	6
Калибратор (мкл)	–	10	25	50	75	100
NaCl 9г/л (мкл)	100	90	75	50	25	–
Концентрация	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1

Концентрация калибратора указана в инструкции к калибратору протеинов (**C**).

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Все компоненты набора стабильны вплоть до указанной на этикетке даты (Expiration Date) при хранении в плотно закрытом флаконе при 2-8°C с предотвращением контаминации при использовании. Не используйте реагенты после окончания срока годности.

Признаки порчи реагентов: присутствие частиц или мутности.

Не замораживайте, замороженные антитела или дилюент могут изменять функциональную активность.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- Термостат с 37°C.
- Спектрофотометр или термостатируемый анализатор (37°C) с фильтром 340нм (320–360нм).

ПРОБЫ

Свежая сыворотка или плазма. В качестве антикоагулянта должны быть использованы ЭДТА или гепарин. Стабильность 7 дней при 2-8°C или 3 месяца при –20°C. Пробы с фибрином должны быть центрифугированы. Не используйте гемолизированные или липемические пробы.

ПРОЦЕДУРА

1. Доведите реагенты и анализатор (держатель кюветы) до 37°C.
2. Условия теста:

Длина волны:	340нм (320–360нм)
Температура:	37°C.
Оптический путь:	1см
Метод:	кинетика по фиксир. времени по многоточечной калибровке, время задержки 3с, время реакции – 120с.

3. Установите прибор на ноль по дистиллированной воде.
4. Отдозируйте в кюветы:

	Метод	Микрометод	ChemWell
Реагент R1 (мкл)	800 мкл	400 мкл	160 мкл
Калибраторы (мкл)	10 мкл	5 мкл	2 мкл
Проба (мкл)	10 мкл	5 мкл	2 мкл

5. Перемешайте, измерьте абсорбцию (A_1) при 340 нм после добавления пробы.
6. Затем немедленно пипетируйте в кюветы:

Реагент R2 (мкл)	200 мкл	100 мкл	40 мкл

7. Перемешайте и *точно* через 2 минуты после добавления R2 измерьте абсорбцию (A_2).

Реагенты могут быть использованы с различными автоматическими биохимическими анализаторами или в ручных процедурах на фотометрах с подходящей длиной волны. **У Spinreact есть адаптации к различным автоматическим анализаторам, которые доступны по запросу**.

РАСЧЕТЫ

Рассчитайте изменение абсорбции ($\Delta A=A_1–A_2$) для каждой точки калибровочной кривой (каждого стандарта) и постройте калибровочную кривую зависимости концентрации каждого стандарта от его изменения абсорбции. Концентрация IgM в пробе рассчитывается интерполяцией ее ΔA к калибровочной кривой.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля характеристик ручных и автоматических процедур рекомендуется использовать контрольную сыворотку Spinreact PROT CONTROL (кат.№: 1102004). Каждая лаборатория должна представить свою собственную схему контроля качества и действия по исправлению, если контроли вне приемлемых диапазонов.

РЕФЕРЕНТНЫЕ ВЕЛИЧИНЫ[4]

40 – 230 мг/дл. Каждая лаборатория должна представить свой референсный диапазон.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. ***Линейность***: до 300 мг/дл (Примечание 1), при описанных выше условиях. Пробы с большими концентрациями должны быть разведены 1/5 физраствором (NaCl 9г/л) и тестированы повторно, результат умножить на 5. Предел линейности зависит от соотношения проба/реагент. Он будет повышаться при снижения объема сыворотки, при этом также будет пропорционально снижаться чувствительность.
2. ***Определяемый уровень***: Значения ниже 1 мг/дл дают невоспроизводимые результаты.
3. ***Эффект прозоны***: Не наблюдается эффекта прозоны до 2000 мг/дл.
4. ***Чувствительность***: Δ 2,4 мА / мг/дл (30 мг/дл).
5. ***Воспроизводимость***:

	Внутри серии тестов (n=10)	
Среднее (мг/дл)		
SD		
CV %		

Между сериями тестов (n=10)	

6. ***Правильность***: результаты, полученные с помощью этого теста (y) при сравнении с другими, полученными с использованием коммерческих реагентов (x) с похожими характеристиками, не давали систематических различий. При обследовании 100 проб в диапазоне 50–210 мг/дл IgM были получены следующие результаты: Коэффициент корреляции (r): 0,958.Уравнение регресии: y=0,974x+1.296.

Результаты характеристик теста зависят от используемого анализатора.

ИНТЕРФЕРЕНЦИИ

Нет интерференции с гемоглобином (до 10 г/л), билирубином (до 20 мг/дл), липидами (до 5 г/л) и ревматоидными факторами (до 900 МЕ/мл). Другие вещества также могут влиять[5,6].

ПРИМЕЧАНИЯ

1. Линейность зависит от концентрации калибратора.
2. Клинический диагноз не должен ставиться по результатам одиночного теста; он должен быть основан на совокупности клинических и других лабораторных данных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Phipladelphia, 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 1966; 14: 401-406.
5. Young DS.Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3tn ed. AACC Pres, 1997.