

^LIgM (Imunoglobulin M)

Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení imunoglobulinu M (IgM) v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:

BV 40040

150 ml (5 x 25 ml + 1 x 25 ml)

Shrnutí¹⁻³:

Třídy lidského imunoglobulinu (IgG, IgA, IgM, IgE a IgD) jsou skupinou funkčně a strukturálně těsně spjatých glykoproteinů. Lidský IgM má molekulovou hmotnost okolo 970 000 daltonů a skládá se z pěti molekul ve tvaru Y, které jsou spolu svázány spojujícím peptidem. Každá z těchto pěti jednotek ve tvaru Y se skládá ze dvou identických těžkých řetězců a dvou identických lehkých řetězců, které jsou spolu svázány disulfidickými vazbami. IgM je produkován plazmovými buňkami (B buňky) a představuje asi 5 % všech tříd rozpustného imunoglobulinu. Hlavní funkcí IgM je vázat antigeny, které iniciují aktivaci komplementu, a spouštět další katabolismus antigenu. IgM je třída imunoglobulinu, který je syntetizován teprve až po počátečním kontaktu s novým antigenem.

Snížené koncentrace IgM se objevují u primárních, jakož i u sekundárních syndromů deficitu imunity. Zvýšená ztráta proteinů, způsobená těžkým zánětem střev, může mít za následek sníženou koncentraci IgM. Vysoké zvýšení u jedné třídy imunoglobulinu, způsobené mnohočetným myelomem, může mít za následek pokles u jiných tříd imunoglobulinu, např. IgM.

Zvýšené koncentrace IgM lze pozorovat při těžkých infekčních onemocněních a autoimunitních onemocněních. Četné formy myelomu a zejména Waldenströмова makroglobulinémie produkují vysoká množství monoklonálního nebo polyklonálního IgM. Kvantitativní stanovení IgM je nezbytné pro diferenční diagnostiku těchto onemocnění.

Všechny metody kvantifikace IgM se kalibrují pro polyklonální IgM. Kvantifikace monoklonálního IgM není standardizována a hodnoty se u různých reagentů a metod mohou lišit. Hodnoty by se měly používat pouze pro navazující studie. Monoklonální imunoglobulinémie vyžaduje podrobné vyšetření v rámci diferenční diagnózy jako další prvek kvantitativního stanovení.

Metoda:

Imunoturbidimetrické stanovení.

Princip:

Stanovení koncentrace IgM pomocí fotometrického měření je založeno na reakci antigen-protilátka mezi protilátkami proti lidskému IgM a IgM přítomnými ve vzorku.

Reagencie:

Složení a koncentrace:

R1:

Tris pufr pH 7,5 100 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
Polyethylenglykol (PEG), detergenty a stabilizátory

R2:

Tris pufr pH 8,0 100 mmol/l
NaCl 1150 mmol/l
Protilátka (koží) proti lidskému IgM < 1%

Skladování a stabilita:

Diagnostické použití in vitro.

Reagencie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Zabránit kontaminaci. Reagencie nesmí zmraznout. Nutno chránit před světlem!

Příprava reakčních roztoků:

Činidla R1 a R2 jsou připravena k přímému použití a skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce měsíce deklarovaného data na balení. Reagencie nezamrazujte!

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Sérum, plazma (EDTA nebo heparin).

Stabilita⁴: 7 dní při 20–25°C

3 měsíce při 4–8°C

6 měsíců při –20°C

Vzorek nesmí být po rozmrazení opakovaně zmrazen. Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

Pracovní postup:

Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.

Vlnová délka: 415/700 nm (bichromatické měření)

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,002	-	-
Dest. voda	-	-	0,002
Standard	-	0,002	-
R1	0,250	0,250	0,250

Promíchat a 3 minuty inkubovat (37°C), změřit absorbanci A₁ vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}), potom přidat:

R2	0,050	0,050	0,050
----	-------	-------	-------

Promíchat a 3 minuty inkubovat (37°C), změřit absorbanci A₂ vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}).

Výpočet:

Koncentrace IgM v neznámém vzorku je odvozena z kalibrační křivky pomocí vhodného matematického modelu jako je logit/log. Kalibrační křivku sestrojte pomocí sady minimálně 5

kalibrátorů s různými hodnotami koncentrace a pro stanovení nulové hodnoty použijte 0,9% NaCl.

Stabilita kalibrace: 4 týdny

Jednotlivé body kalibrační křivky určíme podle vztahu:

$$C_{IgM} = C_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [g/l]$$

C_{st} koncentrace IgM v jednotlivých standardech uvedené v atestu [g/l]

A_s absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v g/l na 2 platná desetinná místa.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor TruCal Protein Set (k.č. BV 50020). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na ERM-DA470k/IFCC, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{cal} = 3,43\%$.

Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra s deklarovanou hodnotou koncentrace IgM:

^L BV Protein – kontrola Level 1 kat.č. BV 30017 1 ml

^L BV Protein – kontrola Level 2 kat.č. BV 30018 1 ml

Referenční hodnoty:

Dospělí ⁶ :	0,4 – 2,3 g/l
Děti ⁷ :	0,1 – 0,3 g/l
novorozenci	0,1 – 0,7 g/l
1-3 měsíce	0,2 – 1,0 g/l
4-6 měsíců	0,3 – 1,0 g/l
7-12 měsíců	0,4 – 1,4 g/l
2 roky	0,4 – 1,8 g/l
3-5 roků	0,4 – 1,6 g/l
6-9 roků	0,4 – 1,5 g/l
10-13 roků	

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

Měřicí rozsah:

0,25 – 8,0 g/l

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,03 g/l

Analytická senzitivita/citlivost:

0,015 g/l

Bias:

0,8% (pro 1,90 g/l)

2,7% (pro 0,96 g/l)

Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ($k=2$)

$$U_{st} = 2\sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2\sqrt{(3,43^2 + 1,69^2)} = 7,65\%$$

Analytická selektivita:

Protilátky použité v tomto stanovení jsou specifické proti lidskému IgM. Bilirubin do 1,03 mmol/l, hemoglobin do 10 g/l, RF do 1700 IU/ml a lipémie do 22 mmol/l triacylglycerolů neruší stanovení.

Za dodržení doporučených testovacích podmínek nebyly pozorovány křížové reakce mezi IgG nebo IgA.

Pro více informací o interferujících látkách viz Young DS⁵.

Prozone limit:

80 g/l

Přesnost:

Přesnost podle protokolu EP-5 NCCLS.

Přesnost v sérii: ($n=40$)

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	0,87	0,021	2,35
vzorek 2	2,75	0,061	2,21
vzorek 3	4,2	0,089	2,12

Přesnost ze dne na den: ($n=40$)

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	0,87	0,018	2,04
vzorek 2	2,75	0,034	1,25
vzorek 3	4,2	0,071	1,69

Srovnání metod:

Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor

^LIgM (y) a komerčně dostupnou nefelometrickou soupravou (x) bylo provedeno na 77 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 0,93x + 0,04$ g/l; $r = 0,992$.

Upozornění:

1. Pokud je koncentrace IgM ve vzorku vyšší než 8 g/l, je nutné vzorek naředit 1+1 fyziologickým roztokem (NaCl 9 g/l) a výsledek násobit 2x
2. Pokud je koncentrace IgM ve vzorku nižší než měřicí rozsah soupravy, opakujte stanovení s dvojnásobným objemem vzorku. Pokud je koncentrace stále pod měřicím rozsahem stanovení, zkontrolujte vliv prozone limitu vhodným naředěním vzorku.
3. Reagencie jsou konzervovány azidem sodným (0,095%), zabraňte styku s pokožkou a sliznicemi.
4. Reagent 2 obsahuje biologický materiál zvířecího původu. Zacházejte s ním jako s potenciálně infekčním materiálem v souladu s pokyny správné laboratorní praxe.
5. Ve vzácných případech, vzorky pacientů s gamapathii mohou dávat falešné výsledky.
6. Při práci s touto reagentií dodržujte nutná bezpečnostní opatření v souladu s bezpečnostním listem. Určeno pro diagnostické účely, výsledky by měly být vždy hodnoceny s ohledem na zdravotní historii pacienta, klinické zkoušky a další závěry.
7. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem.
8. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Literatura:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 667-78.
2. Johnson AM, Rohlf EM, Silverman LM. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER. editors. Tietz textbook of clinical chemistry.

- 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1999. p. 507-12.
3. Bartl R, Hoechtlen-Vollmar W, Thomas L. Monoclonal immunoglobulins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 742-58.
4. Guder WG, Narayanan S et al. List of Analytes; Preanalytical Variables. 1st ed. Darmstadt: Git Verlag, 1996: 16-7.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Dati F, Schumann G, Thomas L, Aguzzi F, Baudner S, Bienvenu J et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-20.
7. Heil R, Koberstein R, Zawta B. Referenzbereiche für Kinder und Erwachsene. Roche Diagnostics 2004. p. 48 - 49.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240–1243.

Vyrobno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika