

Immunoglobulin M (IgM)

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of IgM (Immunoglobulin M) in human serum by turbidimetric assay

REF

Content

A00524 1x 10 mL IgM Antibody Reagent
 5x 25 mL IgM Buffer

Additionally offered:

A00704 5x 1 mL Protein Calibrator 5 level series
 A00580 1x 1 mL Protein Calibrator High
 A00703 1x 5 mL Protein Calibrator High
 A00701 1x 1 mL Protein Calibrator Low
 A00702 1x 5 mL Protein Calibrator Low
 A00590 1x 1 mL Protein Control
 A00800 1x 5 mL Protein Control
 A08591 1x 1 mL Protein Control Low
 A08823 1x 5 mL Protein Control Low

GENERAL INFORMATION

Method Immunoturbidimetric
Reaction Nonlinear, endpoint
Wavelength 340 nm
Assay Temperature 18 – 37 °C
Sample Serum
Measuring Range approx. 0 – 500 mg/dL
Sensitivity 6 mg/dL (Hitachi 911)
Hook Effect without sample dilution: > 4,500 mg/dL (Hitachi 911)
 with sample dilution: > 4,500 mg/dL (Hitachi 911)
Manual Test Procedure Tests/Kit*
 without sample dilution 125
 with sample dilution 166

Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS	FINAL CONCENTRATION
IgM Antibody Reagent	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for IgM	variable
Sodium azide	0.095 %
IgM Buffer	
Saline	9 g/L
Enhancer	
Sodium azide	0.095 %

REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions: Protect from light. Close immediately after use.
Stability: at 2 – 8 °C up to the expiration date
 at 18 – 25 °C 1 month

Do not freeze!

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability: at 2 – 8 °C 48 hours
 at – 20 °C 3 months

Freeze only once!

MANUAL TEST PROCEDURE

Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent or use the 5 level calibrator series. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	5 µL	5 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	80 µL	80 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%

Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrls/Samples	25 µL	25 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	60 µL	60 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

CALCULATION

Calculate and plot $\Delta A = (A2 - A1)$ of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate ΔA optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

REFERENCE RANGE

Men: 32 – 214 mg/dL

Women: 40 – 250 mg/dL

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of IgM is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

IgM is important in early response to infections. The measurement of IgM is important for typing immunodeficiencies and myelomas. IgM plays an important role in the humoral defense of the body. Serum levels may be increased in all kind of acute infections. Elevated levels in cord serum suggest clinical infection in the newborn.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

6 mg/dL (Hitachi 911)

ACCURACY

Controls were assayed in duplicate on a Hitachi 911.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Cliniqa Level 1	74 (63 – 85)	84
Cliniqa Level 2	162 (137 – 186)	173
Cliniqa Level	237 (201 – 273)	250
Biorad Level 1	67 (54 – 81)	75
Biorad Level 2	129 (103 – 155)	153
DIALAB	151 (128 – 173)	151
Behring Protein Control	67.6 (57.5 – 77.7)	67
CRM	79 (67 – 91)	85

PRECISION

Intra-Assay Precision

3 Serum Samples were consecutively measured on the Hitachi 911.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	72.3	1.03	1.43
Medium	20	147.35	2.35	1.59
High	20	436.15	2.81	0.64

Inter-Assay Precision

3 Control Sera were measured daily on the Hitachi 911 after calibration.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	67.1	2.12	3.17
Medium	20	141.75	5.18	3.65
High	20	433.6	10.81	2.49

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:

$$y = 0.9885x - 9.9208; r = 0.9992$$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Triglycerides	2500 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Sodium Citrate	1000 mg/dL
Heparin	50 mg/dL		

QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with IgM values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Protein Control and the Protein Control Low.

CALIBRATION

The assay requires the use of IgM serum Calibrators. We recommend the Dialab Protein Calibrator 5 Level Series, the Protein Calibrator High or the Protein Calibrator Low.

AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- The IgM reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

REFERENCES

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
- Kotke, B.A., et al., Mayo Clin. Proc., 61, 313 (1986)
- Naito, H.K., J. Clin. Immunoassay, 9, 155 (1986)



Immunglobulin M (IgM)

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von IgM (Immunglobulin M) in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF	Inhalt
A00524	1x 10 mL IgM Antikörperreagenz 5x 25 mL IgM Puffer

Zusätzlich wird angeboten:

A00704	5x 1 mL Protein Kalibrator 5 Level Serie
A00580	1x 1 mL Protein Kalibrator Hoch
A00703	1x 5 mL Protein Kalibrator Hoch
A00701	1x 1 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00702	1x 5 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00590	1x 1 mL Protein Kontrolle
A00800	1x 5 mL Protein Kontrolle
A08591	1x 1 mL Protein Kontrolle Niedrig
A08823	1x 5 mL Protein Kontrolle Niedrig

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode:	Immunoturbidimetrisch
Reaktion:	Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge:	340 nm
Testtemperatur:	18 – 37 °C
Probe:	Serum
Messbereich:	ca. 0 – 500 mg/dL
Sensitivität:	6 mg/dL (Hitachi 911)
Hook-Effekt	ohne Probenverdünnung: > 4,500 mg/dL (Hitachi 911) mit Probenverdünnung: > 4,500 mg/dL (Hitachi 911)

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung	125
mit Probenverdünnung	166

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

REAGENZENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

IgM Antikörperreagenz

Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für IgM
 Natriumazid 0.095 %

IgM Puffer

Kochsalzlösung 9 g/L
 Reaktionsverstärker
 Natriumazid 0.095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen:	Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.	
Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C bis zum Verfallsdatum	bei 18 – 25 °C 1 Monat

Nicht einfrieren!

PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C 48 Stunden	bei – 20 °C 3 Monate
---------------------	-------------------------	----------------------

Nur einmal einfrieren!

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen oder die 5 Level Kalibratorserie verwenden. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	5 µL	5 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	80 µL	80 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	25 µL	25 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	60 µL	60 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

BERECHNUNG

Das $\Delta A = (A2 - A1)$ jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die ΔA optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dL auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

REFERENZBEREICH

Männer: 32 – 214 mg/dL
 Frauen: 40 – 250 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für IgM basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

IgM ist wichtig in der ersten Antwort auf Infektionen. Die IgM-Messung ist wichtig für die Typisierung von Immunschwächen und Myelomen. IgM spielt in der humoralen Immunabwehr eine wichtige Rolle. Serumwerte können bei allen Arten von akuten Infektionen erhöht sein. Erhöhte Werte im Nabelschnurserum deuten auf eine klinische Infektion in dem Neugeborenen hin.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

6 mg/dL (Hitachi 911)

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden in Doppelbestimmung auf dem Hitachi 911 gemessen.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Cliniqa Level 1	74 (63 – 85)	84
Cliniqa Level 2	162 (137 – 186)	173
Cliniqa Level	237 (201 – 273)	250
Biorad Level 1	67 (54 – 81)	75
Biorad Level 2	129 (103 – 155)	153
DIALAB	151 (128 – 173)	151
Behring Protein Kontrolle	67.6 (57.5 – 77.7)	67
CRM	79 (67 – 91)	85

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

3 Serumproben wurden nacheinander auf dem Hitachi 911 gemessen.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	72.3	1.03	1.43
Mittel	20	147.35	2.35	1.59
Hoch	20	436.15	2.81	0.64

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurden 3 Kontrollserien täglich auf dem Hitachi 911 Analyser gemessen.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	67.1	2.12	3.17
Mittel	20	141.75	5.18	3.65
Hoch	20	433.6	10.81	2.49

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:

$$y = 0.9885x - 9.9208; r = 0.9992$$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Triglyceride	2500 mg/dL	Hämoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Natrium-Citrat	1000 mg/dL
Heparin	50 mg/dL		

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollserien, bei denen IgM mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

KALIBRATION

Für diesen Test werden IgM Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen die Dialab Protein Kalibrator 5 Level Serie, den Protein Kalibrator Hoch oder den Protein Kalibrator Niedrig.

AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die IgM Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet

ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

BIBLIOGRAPHIE

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
- Kotke, B.A., et al., Mayo Clin. Proc., 61, 313 (1986)
- Naito, H.K., J. Clin. Immunoassay, 9, 155 (1986)

