

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B7301	200 / 600	R1	6 x	20 ml
		R2	6 x	8 ml
B7303	300 / 600*	R1	6 x	20 ml
		R2	6 x	8 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

Immunturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of IgM in human serum and plasma.

Summary:

IgM normally consists of 10 heavy μ -chains and 10 κ or λ type light chains which are always identical within a molecule. There is also a J-chain linking all the μ -chains together, so that simply speaking, IgM has a pentameric structure when compared to that of IgG. IgM is the largest immunoglobulin molecule (MW=900000), but makes up only 6% of the plasma immunoglobulins.

IgM is the first specific antibody to appear in the serum after infection. It is capable of activating complement, thus helping to kill bacteria. IgM levels sink after the infection has subsided at a relatively rapid rate compared to IgG. This fact is used to advantage in the differential diagnosis of acute and chronic infections by comparing specific IgM and IgG titers. If IgM is prevalent the infection is acute, whereas if IgG predominates the infection is chronic (e.g. rubella, viral hepatitis).

Increased polyclonal IgM levels are found in viral, bacterial, and parasitic infections, liver diseases, rheumatoid arthritis, scleroderma, cystic fibrosis, and heroin addiction. Monoclonal IgM is increased in Waldenström's macroglobulinemia. Increased loss of IgM is found in protein-losing enteropathies and in burns. Decreased synthesis of IgM occurs in congenital and acquired immunodeficiency syndromes.

Use of specific antibodies for quantitation of serum proteins has become a valuable diagnostic tool. Light-scattering properties of antigen/antibody aggregates were first observed by Pope and Healey in 1938, and later confirmed by Gitlin and Edelhoch. Ritchie employed turbidimetric measurements to quantitate specific proteins. Quantitation of immunoglobulins can also be done using nephelometric techniques. Polymeric enhancement with polyethylene glycol (PEG) to improve sensitivity and increase the rate of antigen/antibody complex formation has been described by Lizana and Hellsing.

Test principle:

Immunturbidimetric assay.

Anti-IgM antibodies react with antigen in the sample to form an antigen/antibody complex. Following agglutination, this is measured turbidimetrically. Addition of PEG allows the reaction to progress rapidly to the end point, increases sensitivity, and reduces the risk of samples containing excess antigen producing false negative results.

Reagent concentration:

R1:

TRIS* buffer pH 7.8 100 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
polyethylene glycol 4.5 %
preservative

R2:

Anti-human IgM antibody (goat) dependent on titer
TRIS* buffer pH 7.8 80 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
preservative

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

Preparation and stability:

R1: Ready for use.

R2: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C

Onboard stability at +2°C to +8°C: R1: 90 days
R2: 90 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes

Na-heparin-, Li-heparin- or EDTA-plasma

Stability: 7 days at +20°C to +25°C
3 month at +4°C to +8°C
6 month at -20°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.

The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within $\pm 10\%$ of initial value.

Icterus: No significant interference up to a bilirubin concentration of 100 mg/dl.

Hemolysis: No significant interference up to a hemoglobin concentration of 1200 mg/dl.

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 675 (approximate triglycerides concentration: 1350 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.

Rheumatoid factors < 56 IU/mL do not interfere.

There is no cross-reaction between IgM, IgG and IgA under the assay conditions.

Sera with ill-defined characteristics should be subject to protein-electrophoresis to identify a possible antigen excess (e.g. gammopathy)

A high-dose hook effect may occur at concentrations above 10000 mg/dl IgM.

The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases.

In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

• 0.9% NaCl

Measuring/reportable range:

20 – 800 mg/dl (0.2 – 8 g/l)

Determine samples having higher concentrations via the rerun function using 0.9% NaCl solution.

Expected values:

IFCC 40 – 230 mg/dl
CRM 470* 0.4 – 2.3 g/l

* Reference values according to CRM 470 Protein Standardization

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range.

For diagnostic purposes the IgM results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 2 mg/dl (0.02 g/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable IgM concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls (n = 20). The following results were obtained:

<u>Within run</u>			
Sample	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Sample 1	107.13	2.083	1.9
Sample 2	213.40	2.398	1.1
Sample 3	315.05	7.634	2.4

<u>Between day</u>			
Sample	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Sample 1	102.65	2.178	2.1
Sample 2	86.38	2.432	2.8
Sample 3	156.64	3.259	2.1

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex IgM (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result (mg/dl):

$$y = 0.9808x - 2.2387; \quad r = 0.9953$$

Quality control:

Protein Control Level 1 3 x 1 ml #7661
Protein Control Level 2 3 x 1 ml #7662

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: The IgM method was calibrated against the CRM 470 reference material.

Calibration Type: Logit-Log

S1: 0.9% NaCl

S2-S6: Bio Cal® P Calibration Set 5 x 1 ml #1475

Calibration frequency:

Full recalibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

Literature:

1. Consensus values of the „Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin“, the „Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie“ and the „Verband der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH)“. Clin Lab 1995;41:743-748
2. Deutsch E, Geyer G, Wenger R. Laboratoriumsmedizin. Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3rd ed. Basel/Munich: Karger 1992.
3. Gitlin D, Edelhoch H. J Immunol 11951;66:76-78
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
5. Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
6. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, II. Philadelphia: WB Saunders Co 1979
7. Kaplan La, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation. St Louis: CV Mosby Co 1984
8. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
9. Lizana J Hellsing K. Clin Chem 1974;20:1181
10. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967;70:512
11. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
12. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 2nd Philadelphia, Pa: WB Saunders. 1990:328-331
13. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
14. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston: Little, Brown & Co, 1978

BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B7301	200 / 600	R1 6 x 20 ml
		R2 6 x 8 ml
B7303	300 / 600*	R1 6 x 20 ml
		R2 6 x 8 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von IgM in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

IgM besteht üblicherweise aus 10 schweren μ -Ketten und 10 leichten Ketten (κ - oder λ -Typ), letztere jedoch in einem Molekül immer uniform. Dazu kommt noch eine Verbindungskette, die alle μ -Ketten miteinander verknüpft (J-Chain), so dass vereinfacht betrachtet, ein Pentamer im Vergleich zu IgG besteht. Es ist das größte Immunglobulin (MG = 900000), sein Anteil an den Plasmaimmoglobulinen beträgt jedoch nur 6%.

IgM ist der erste spezifische Antikörper, der nach einer Infektion im Serum erscheint. Es vermag Komplement zu aktivieren und hilft damit Bakterien zu töten. Der Spiegel an IgM sinkt nach Abklingen der Infektion aber im Gegensatz zu IgG relativ schnell wieder ab. Diesen Umstand macht man sich bei der Differentialdiagnose zwischen akuter und chronischer Infektion zunutze, indem man die Titer von spezifischem IgM mit denen von spezifischem IgG vergleicht. Überwiegt IgM, so ist die Infektion akut, überwiegt IgG, so handelt es sich um eine eher chronische Infektion (z.B. bei Rubeolen, Virus-hepatitis).

Erhöhte polyklonale IgM-Spiegel werden bei viralen, bakteriellen und parasitären Infektionen, Lebererkrankungen, rheumatoider Arthritis, sklerodermie, cystischer Fibrose und Heroinsucht gefunden. Höhere Konzentrationen an monoklonalem IgM treten bei der Waldenström Makroglobulinämie auf. Erniedrigte IgM-Konzentrationen findet man bei Proteinverlust-Enteropathien und Verbrennungen. Eine verminderte IgM-Synthese tritt bei kongenitalen und erworbenen Immundefizienzsyndromen auf.

Der Einsatz von spezifischen Antikörpern zur Bestimmung der Serumproteine hat sich zu einem wertvollen diagnostischen Hilfsmittel entwickelt. Die lichtstreuenden Eigenschaften der Antigen-Antikörper-Komplexe wurden zuerst von Pope und Hearly 1938 beobachtet und von Gitlin und Edelhoch bestätigt. Ritchie verwendete für quantitative Proteinmessungen die turbidimetrische Bestimmung. Mit der nephelometrischen Methode lassen sich ebenfalls die Immunglobuline quantitativ bestimmen. Die Zugabe von Polyethylenglycol (PEG), wie von Lizana und Helsing beschrieben, verstärkt die Präzipitation des Antigen-Antikörper-Komplexes und erhöht die Sensitivität des Tests.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest

Anti-IgM-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
TRIS* Puffer pH 7,8	100 mmol/l
Natriumchlorid	150 mmol/l
Polyethylenglycol	4,5 %
Konservierungsmittel	

R2:	
Anti-Human-IgM-Antikörper (Ziege)	Abhängig vom Titer
TRIS* Puffer pH 7,8	80 mmol/l
Natriumchlorid	150 mmol/l
Konservierungsmittel	

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.

R2: Inhalt ist gebrauchsfertig.

Ungeöffnete Packungsbestandteile sind bei +2°C bis +8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.

Onboard Stabilität bei +2°C bis +8°C:	R1	90 Tage
	R2	90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen Li-Heparin-, Na-Heparin- oder EDTA-Plasma

Haltbarkeit:	7 Tage	bei +20°C bis +25°C
	3 Monate	bei +4°C bis +8°C
	6 Monate	bei -20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Bilirubin-Konzentration von 100 mg/dl.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 1200 mg/dl.

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 675 (ca. 1350 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

Keine wesentlichen Beeinflussungen bis zu einem Rheumafaktor von 56 IU/ml.

IgM gibt unter Testbedingungen keine Kreuzreaktionen mit IgG und IgA.

Bei Seren mit unklarer klinischer Charakterisierung sollte eine Protein-Elektrophorese vorgeschaltet werden, um einen eventuell vorhandenen Antigenüberschuss (z.B. Gammopathie) zu erkennen.

Bei IgM-Konzentrationen über 10000 mg/dl kann der High-Dose-Hook-Effekt auftreten.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben
- zusätzlich benötigte Materialien
- Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben
- NaCl-Lösung (0,9%)

Messbereich:

20 – 800 mg/dl (0,2 – 8 g/l)

Bei höheren Konzentrationen werden die Proben über die Rerun-Funktion mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) bestimmt.

Referenzbereich:

IFCC	40 – 230	mg/dl
CRM 470*	0,4 – 2,3	g/l

* Referenzwerte gem. CRM 470 Protein-Standardisierung

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die

IgM- Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 2 mg/dl bzw. 0,02 g/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren IgM- Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)	VK %
Probe 1	107,13	2,083	1,9
Probe 2	213,40	2,398	1,1
Probe 3	315,05	7,634	2,4

Probe	Tag / Tag		
	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)	VK %
Probe 1	102,65	2,178	2,1
Probe 2	86,38	2,432	2,8
Probe 3	156,64	3,259	2,1

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex IgM (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (mg/dl):
 $y = 0.9808x - 2.2387$; $r = 0.9953$

Qualitätskontrolle:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung: Die IgM-Methode wurde an der Referenzpräparation CRM 470 abgeglichen.

Kalibrations Typ: Logit-Log

S1: 0.9% NaCl
S2-S6: Bio Cal® P Calibration Set 5 x 1 ml #1475

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

Literatur:

1. Deutsch E, Geyer G, Wenger R. Laboratoriumsmedizin. Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3. Auflage Basel/München: Karger 1992.
2. Gitlin D, Edelhoch H. J Immunol 11951;66:76-78
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
4. Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
5. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, II. Philadelphia: WB Saunders Co 1979
6. Kaplan LA, Pesce AJ, (Hrsg.). Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation. St Louis: CV Mosby Co 1984
7. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
8. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
9. Lizana J Hellsing K. Clin Chem 1974;20:1181
10. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967;70:512
11. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
12. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1990:328-331
13. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
14. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3. Auflage ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978