

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão TURB IgM – IMUNOGLOBULINA M	Página 1 de 4 POPTURBxxx/xx
--------------------------------------	------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------

USO

Reagente utilizado na determinação quantitativa de Imunoglobulina M (IgM) no soro ou plasma humanos por imunoturbidimetria. Somente para uso diagnóstico "in vitro".

PRINCÍPIO

A turbidimetria baseia-se na detecção ótica de partículas muito pequenas suspensas em líquido. Quando o anticorpo específico para a Imunoglobulina M reage com o IgM presente na amostra (antígeno) formam-se os imunocomplexos insolúveis que induzem uma turbidez, medida por espectrofotometria a 340nm. Essa turbidez é diretamente proporcional à concentração da Imunoglobulina M na amostra.

AMOSTRA.

É recomendado soro livre de hemólise ou plasma (EDTA). O IGM é estável no soro por 48 horas se for refrigerado entre 2 - 8°C. Para período mais prolongado, congelar a amostra (-20°C) por no máximo 3 meses (congelar somente uma vez). Todas as amostras e controles são considerados potencialmente infectantes, portanto sugerimos manuseá-las seguindo as normas estabelecidas de Biossegurança.

PRODUTO UTILIZADO - APRESENTAÇÃO

Linha Automação: R1= 1 x 25mL + R2= 1 x 3mL - Cód.1038

Linha Hitch-Line: R1= 1 x 90mL + R2= 1 x 12mL - Cód.10038

Para mais informações sobre sistemas automáticos, entrar em contato com o SAC EBRAM - tel. (011) 2291-2811, sac@ebram.com ou www.ebram.com.

EQUIPAMENTOS

- **Procedimento Manual**

Espectrofotômetro ou fotômetro com cubeta termostaticada 37°C para leituras a 340 nm

Cubetas ou fluxo contínuo com 1.0 cm de passo óptico

Banho-Maria 37°C

Pipetas calibradas ou dispensador automático para reagentes e amostras

- **Procedimento Automatizado**

Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analisador automatizado, fazendo referência ao manual (ou POP) para utilização do mesmo

- **Procedimento alternativo**

Indicar o equipamento alternativo e os respectivos procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem automatizados

CONTROLE DE QUALIDADE

Cada laboratório deve manter um programa interno de qualidade que defina objetivos, procedimentos, normas, limites de tolerância e ações corretivas. Deve-se manter também um sistema definido para se monitorar a variação analítica do sistema de medição.

PROCEDIMENTO

- **Procedimento Manual**

Pré-diluir as amostras e os controles, em fisiológica, na razão 1:5 (100µl de amostra + 400µl de solução fisiológica).

PREPARO DOS PONTOS DE CALIBRAÇÃO

Identificar 6 tubos de ensaios (1 a 6).

Adicionar ao tubo 1, 400µl de solução fisiológica + 100µl de calibrador. Homogeneizar.

Adicionar aos tubos 2 a 6, 250µl de solução fisiológica.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 1 para o tubo 2. Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 2 para o tubo 3. Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 3 para o tubo 4. Homogeneizar.

Transferir 250µl do conteúdo do tubo 4 para o tubo 5. Homogeneizar.

	Tubo1	Tubo2	Tubo3	Tubo4	Tubo5	Tubo6
Fator de diluição	1.0	0.5	0.25	0.125	0.063	0

Obs: a concentração de cada ponto é obtida multiplicando-se a concentração do calibrador pelo fator de diluição

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Separar tubos de ensaio para cada ponto de calibração, branco, amostra / soro controle e realizar os procedimentos conforme tabela abaixo:

	Branco	Calibrador	Amostra/S.C.
Água destilada	15µL	-	-
Pontos de Calibração	-	15µL	-
Amostra/S.C. dil 1:5	-	-	15µL
Reagente R1	250µL	250µL	250µL

Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A1) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.

Reagente R2	50µL	50µL	50µL
-------------	------	------	------

Incubar todos os tubos a 37°C por 5 minutos. Realizar leitura (A2) à 340 nm zerando o aparelho com água destilada.

• **Procedimento Automatizado**

Vide manual para utilização do equipamento, protocolo específico e instruções de uso do reagente.

Para analisadores onde não seja possível o preparo automático da curva de calibração, deve-se seguir orientação do preparo dos pontos de calibração descrito, em Preparo da Curva de Calibração para Analisadores Automáticos, no verso na instrução de uso.

• **Precauções e cuidados especiais**

Este reagente deve ser usado somente para uso diagnóstico "in vitro".

Os produtos de origem humana foram testados e estão livres de HBsAg e anticorpos para HCV e HIV, porém este material deve ser tratado cuidadosamente como potencialmente infeccioso.

Não pipetar com a boca. Evitar contato com a pele e roupa. No caso de contato com os olhos, lavar com grande quantidade de água e procurar auxílio médico.

O reagente contém azida sódica como conservante. Este componente pode reagir com cobre e chumbo podendo tornar-se um metal explosivo. Ao descartá-lo, adicionar grande quantidade de água.

Deve-se monitorar a temperatura do ambiente de trabalho bem como o tempo de reação para obtenção de resultados corretos.

Não usar se o reagente apresentar turbidez, presença de precipitado e se houver dificuldade em conseguir os valores estabelecidos para o soro controle fresco.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão TURB IgM – IMUNOGLOBULINA M	Página 3 de 4 POPTURBxxx/xx
--------------------------------------	------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------

CÁLCULOS

Abs.= Absorbância

1.A Abs final dos pontos de calibração =

(A2 - A1) dos pontos de calibração - (A2 - A1) branco do reagente

2. Confeção da Curva de calibração

-Em um papel milimetrado plotar as absorbâncias finais, dos pontos de calibração no eixo das ordenadas. (eixo y)

-Plotar as concentrações de cada ponto de calibração, na ordem crescente, no eixo das abcissas. (eixo x)

3.A Abs final de amostra =

(A2 - A1) amostra - (A2 - A1) branco do reagente

-Interpolar as absorbâncias finais de cada amostra / soro controle, na curva de calibração para determinar a respectiva concentração.

RESULTADOS

Adultos: 50 - 300 mg/dL.

Crianças de 1 mês a 12 meses: 20 - 150 mg/dL.

Crianças de 1 ano a 12 anos: 45 - 250 mg/dL.

Estes valores são dados unicamente como título orientativo. É recomendado que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- **Linearidade / Sensibilidade**

Quando executado de acordo com o recomendado o teste é linear até 2000 mg/dL. Valores superiores, diluir a amostra com solução salina, repetir a medição e multiplicar o resultado pelo fator de diluição. A linearidade pode variar consideravelmente dependendo do instrumento utilizado. O limite da linearidade depende da relação de amostra/reagente. Aumenta reduzindo o volume da amostra, enquanto que a sensibilidade do ensaio diminuirá proporcionalmente.

Sensibilidade: 0,5 mg/dL

- **Interferências:**

Triglicérides até 2500 mg/dL, bilirrubina até 20 mg/dL, hemoglobina 1000 mg/L, citrato de sódio até 1000 mg/dL não interferem significativamente no resultado. Algumas drogas e substâncias afetam a concentração da Imunoglobulina M, sugerimos consultar Young et al.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Representa 5 a 10% das imunoglobulinas totais Apresenta-se na forma de um pentâmero e não possui subclasses. É reconhecida como o anticorpo precoce, visto ser a primeira imunoglobulina encontrada na resposta a um estímulo antigênico. Por isso, é útil no diagnóstico diferencial das infecções virais ou parasitárias agudas. Diferentemente da IgG, não atravessa a barreira placentária e é a única que o neonato sintetiza. Níveis séricos aumentados em recém-nascidos indicam que a imunoglobulina M foi produzida pelo feto, sugerindo uma infecção pré-natal. Como a IgM é pentamérica, ou seja, possui 10 sítios de ligação com o antígeno, é mais eficiente em ligar-se aos antígenos e ao sistema complemento. Essas características, aliadas ao aparecimento precoce durante a evolução da infecção, fazem dela um potente agente de combate às infecções.

Inserir o nome do Laboratório	Procedimento Operacional Padrão TURB IgM – IMUNOGLOBULINA M	Página 4 de 4 POPTURBxxx/xx
--------------------------------------	------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------

REFERÊNCIAS

1. Bergstrom, K. & Lefvert, A.K. Scand.J.clin.Lab.Invest. 40 (1980) 637.
2. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, (1994).
3. Roitt, I., Essential Immunology, Blackwell, Oxford, (1991).
4. Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
5. Young, D.S. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Testes, Third Edition, AACC Press 1990.
6. Watchel M et al. Creation and Verification of Reference Intervals, Laboratory Medicine, 1996; 26:593-7.
7. Arquivos da Ebram.

	Nome	Assinatura	Data
Elaborado por			
Aprovado por			
Revisado por			
Desativado por			
Razão			