

Determinarea proteinelor IgA prin imunodifuzie radiala**DESCRIEREA TESTULUI**

Proteina examinată, difuzând în gel de agaroză ce conține un anticorp specific va forma un imunocomplex vizibil ca un inel în jurul godeului. Diametrul inelului este direct proporțional cu concentrația proteinei analizate.

Proportia este corespunzătoare cu timpul de difuzie. De fapt, după 72 de ore patrul diametrului va fi în proporție liniară cu concentrația (procedurile 1-3) în timp ce după o scurtă perioadă de difuzie va fi în proporție logaritmică cu concentrația (procedura 2). În ambele cazuri ar trebui construită o curbă de calibrare utilizând cel puțin 3 puncte de calibrare. Cu toate acestea este furnizat un tabel care prezintă relația dintre orice concentrație și diametrul inelului la sfârșitul procedurii.

PROBELE

Ser, plasma. Stabilitate 6 zile la 4°C.

REACTIVII

Placa: Gel de agaroză conținând antiser de capra IgA.

PREGATIREA REACTIVILOR SI PASTRARE

Placile sunt gata de utilizare.

Reactivii sunt stabili până la data de expirare de pe eticheta, dacă placile sunt păstrate orizontal, la 2-8°C.

Stabilitatea după deschidere: două săptămâni dacă, după prima utilizare, sunt păstrate bine închise la 2-8°C.

Placa poate fi utilizată în următoarele 2 săptămâni, verificând precizia cu un ser de control.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

Micropipeta de 5 µl, rigla, materiale de laborator curente.

PRECAUTII

Reactivii pot conține componente non-reactive și conservanți. Se recomandă manipularea cu atenție, evitând contactul cu pielea și mucoasele, înghițirea.

Efectuați testele conform recomandărilor GLP "Good Laboratory Practice".

PROCEDURA

Scoateți placa din plic și lăsați-o să stea la temperatura camerei pentru câteva minute astfel încât apa condensată în godeuri să se evapore. Umpleți godeurile cu 5 µl de proba și/sau controale și așteptați absorbția completă înainte de a manipula placa. Închideți placa și amplasați-o în camera umedă. Așteptați timpul de incubare necesar (72 ore pentru procedura 1 sau 3, 18 ore pentru procedura 2). Pentru scurtarea timpului de analiză este posibil să amplasați placile într-un termostat.

INTERPRETAREA REZULTATELOR

Măsurati inelul de precipitare cu precizie de 0.1 mm, după ce perioada de timp alocată procedurii urmarite pentru proteina corespunzătoare s-a scurs.

Procedura 1

Construiți o curbă pe care reprezentați grafic patratele diametrelor inelului de precipitare în funcție de concentrațiile controalelor. Se va obține o dreaptă, cu intersecția la 10-11 mm. Valorile probelor sunt obținute prin interpolare.

Procedura 2

Constuiți o curbă pe care reprezentați grafic patrutul inelului de precipitare în funcție de logaritmul concentrației controalelor. Graficul va fi o linie dreaptă doar pentru câteva valori. Valorile probelor sunt obținute prin interpolare.

Procedura 3

Citiți concentrațiile conform tabelului de referință inclus, în funcție de diametrul inelului de precipitare. Valoarea inelului este obținută din seruri de control (care trebuie folosite de fiecare dată) cu o limită de încredere de 0.2 mm (din tabelul de referință).

NOTE

Timpul de difuzie și timpul de citire depind de concentrațiile și de difuzia specifică a proteinelor. După 72 h difuzia pentru proteine la orice concentrație este încheiată. Pentru concentrații scăzute este posibil să citiți în timp mai scurt (de ex. 36 h), se recomandă totuși în aceste cazuri să repetați citirea după 3/5 ore. Dacă diametrul este încă același este posibil să stabiliți concentrația, în caz contrar, dacă diametrul este diferit, inelul trebuie remăsurat după cele 3/5 ore.

CALIBRAREA

Se sugerează efectuarea unui control de calitate intern. Pentru acest scop se poate utiliza unul dintre serurile de control:

IC00400 Multiset multiparametric 4 x 1 ml

(pentru α-1 acid Glycoprotein, C3, C4, IgA, IgG, IgM și Transferrina)

PERFORMANTELE TESTULUI**Precizia**

Intra-test (n=10)	Media	SD (mg/dl)	CV %
Proba 1	298.98	5.31	1.78
Proba 2	453.10	7.07	1.56

Inter-teste (n=20)	Media	SD (mg/dl)	CV %
Proba 1	299.62	6.19	2.07
Proba 2	454.61	6.68	1.47

Compararea metodelor

Compararea LTA cu o altă metodă comercială a dat următoarele rezultate pentru 70 de probe:

IgA LTA = x
IgA competitor = y
n=70

$$y = 1.001x + 2.964 \quad r = 0.97143$$

Domeniul de determinare:

IgA 70 – 1050 mg/dl

MANIPULAREA DESEURILOR

Produsul este destinat utilizării în laboratoarele de specialitate. Manipularea deșeurilor trebuie făcută în conformitate cu documentele de securitate și reglementările legale locale.

VALORILE NORMALE

IgA 90 – 450 mg/dl

IMPACHETAREA

COD RK00800

IgA 1 x 15 godeuri

REFERINTE








Mancini & coll. - Immunochemistry. 2:235 (1965)
Fahey & coll. - J. Immunol. 94:84 (1965)

NOTE

- Efectuați testele conform recomandărilor GLP "Good Laboratory Practice".
- Donorii de sange pentru preparate au fost testați și găsiți negativi pentru: HbsAg și anticorpii anti-HIV și HCV.
- Având în vedere că nici un test cunoscut nu poate garanta cu certitudine absolută că produsele derivate din sange uman nu prezintă risc de infecții cu virusuri hepatice sau HIV, materialul trebuie manipulat cu atenție, ca oricare altă probă de pacient.
- Doar pentru diagnostic in vitro.

Utilizati doar tabelul de evaluare pentru lotul inscriptionat pe cutia folosita !

SIMBOLURI GRAFICE UTILIZATE

	Dispozitiv de diagnostic in vitro
	Numar lot
REF	Numar de catalog
	Temperatura de pastrare
	Data expirarii (an , luna)
	Atentie ! cititi documentele insotitoare
	Cititi instructiunile inainte de utilizare
	Risc biologic

Producator	Distribuitoare
LTA s.r.l. Via Milano 15/F 20060 Bussero (Milan) ITALY Tel: ++39 02 95409034 Fax: ++39 02 95334185 e-mail: info@ltaonline.it Website: http://www.ltaonline.it	

