

# MULTIPLA IgA - IgG - IgM RID

Determinazione delle proteine IgA - IgG - IgM, mediante piastra a immunodiffusione radiale.

## PRINCIPIO DEL TEST

La proteina in esame, diffondendo nel gel di agarosio, nel quale è stato sciolto l'anticorpo specifico, causa la formazione di un immunocomplesso, visibile come anello attorno al pozzetto di semina. Il diametro di questo anello è proporzionale alla concentrazione della proteina presente nel campione.

Questa proporzionalità è in funzione del tempo di migrazione, infatti, a migrazione terminata (72 h per IgA e IgG; 96 h per IgM), il quadrato del diametro è lineare proporzionale alla concentrazione (procedura 1), mentre per tempi inferiori il quadrato del diametro è logaritmicamente proporzionale alla concentrazione (procedura 2). In questi due casi è necessario costruire una curva di calibrazione utilizzando almeno tre punti di calibrazione. Viene comunque fornita una tabella di correlazione in cui ad ogni diametro diffusivo terminato è associata una concentrazione (procedura 3).

## CAMPIONI

Siero, plasma. Stabilità 6 giorni a 4 °C.

## REAGENTI

Piastra: Gel di agarosio contenente l'antisiero IgA, IgG, IgM da capra.

## PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Le piastre sono pronte all'uso.  
Stabilità: fino alla scadenza indicata in etichetta se conservate orizzontalmente a 2-8°C.

## Stabilità dopo apertura:

due settimane se, dopo il primo impiego, viene conservata ben chiusa a 2-8°C.

La piastra può essere utilizzata per altre due settimane controllando l'accuratezza mediante un siero di controllo.

## MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Micropipette da 5 µl, regolo per la lettura dell'anello, normale strumentazione di laboratorio.

## PRECAUZIONI

Il reagente può contenere componenti non reattivi e conservanti di varia natura. A scopo cautelativo è comunque opportuno evitare il contatto con la pelle e l'ingestione. Utilizzare le normali precauzioni previste per il comportamento in laboratorio.

## PROCEDIMENTO

Riportare la piastra a temperatura ambiente, aprirla ed attendere che l'eventuale condensa presente nei pozzetti di semina evaporino. Pipettare 5 µl di campione e/o controlli e attendere il completo riassorbimento di questi prima di maneggiare la piastra. Chiuderla accuratamente e porla in camera umida per il tempo necessario allo svolgimento dell'analisi (per IgA e IgG 72 h per metodo End Point, 18 h per il metodo cinetico; per IgM 96 h per metodo End Point, 24 h per il metodo cinetico). Per velocizzare il tempo di analisi è possibile porre le piastre in termostato.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Misurare gli anelli di precipitazione con un sistema che assicuri un errore massimo di 0,1 mm al tempo stabilito in funzione della procedura che si intende seguire e della proteina in esame.

IgA e IgG 72 h per le procedure 1 e 3, 18 h per la procedura 2.

IgM 96 h per le procedure 1 e 3, 24 h per la procedura 2.

## PROCEDURA 1

Riportare su carta millimetrata il quadrato degli anelli di precipitazione e le concentrazioni dei controlli utilizzati. Si dovrebbe ottenere una retta con una intercetta compresa tra 10 e 11 mm. I valori dei campioni si ottengono per interpolazione.

## PROCEDURA 2

Riportare su carta millimetrata il quadrato degli anelli di precipitazione e il logaritmo delle concentrazioni dei controlli utilizzati. Si dovrebbe ottenere una curva interpolante che è approssimabile ad una retta solo per i valori bassi mentre per i valori alti potrebbe piegare leggermente. E' possibile evitare il logaritmo delle concentrazioni e si ottiene una curva. I valori dei campioni si ottengono per interpolazione.

## PROCEDURA 3

Leggere sulla tabella allegata il valore della concentrazione in funzione del diametro dell'anello di precipitazione. Il siero di controllo, da utilizzarsi sempre per questo tipo di procedura, dovrebbe dare un anello che si differenzia al massimo di 0,2 mm dal valore riportato in tabella

## NOTA

Il tempo di diffusione, e quindi il tempo di lettura, dipende dalla concentrazione della proteina. Dopo 72 o 96 ore la diffusione ad ogni concentrazione è sicuramente terminata. Per concentrazioni non elevate è possibile leggere a tempi notevolmente inferiori (es. 36 ore), è comunque consigliato in questi casi effettuare una successiva lettura dopo 3/5 ore ed osservare se il diametro non è variato. In questo caso è possibile stabilire la concentrazione mentre se il diametro è variato occorre ripetere la lettura dopo altre 3/5 ore.

## CALIBRAZIONE

E' consigliabile l'esecuzione di un controllo di qualità interno.

## PRESTAZIONI DEL TEST

### Confronto tra metodi

Un confronto commerciale disponibile ha fornito seguenti risultati per ciascuna proteina, in una comparazione su 70 campioni:

IgA  $T^{\wedge} \frac{A}{A} \frac{P}{P} \frac{C}{C} \frac{S}{S} \frac{A}{A} \frac{M}{M}$

IgA concorrenza = y

n = 70

y = 1,001x + 2,964

r = 0,97143

IgG  $T^{\wedge} \frac{A}{A} \frac{P}{P} \frac{C}{C} \frac{S}{S} \frac{A}{A} \frac{M}{M}$

IgG concorrenza = y

n = 70

y = 0,9835x + 23,161

r = 0,99942

IgM  $T^{\wedge} \frac{A}{A} \frac{P}{P} \frac{C}{C} \frac{S}{S} \frac{A}{A} \frac{M}{M}$

IgM concorrenza = y

n = 70

y = 0,989x + 2,17

r = 0,9995

### Precisione

	IgA			
	media	SD (mg/dl)	CV	%
nella serie (n= 10)				
campione 1	298.98	5.31	1.78	
campione 2	453.10	7.07	1.56	
tra le serie (n= 20)				
% campione 1	299.62	6.19	2.07	
campione 2	454.61	6.68	1.47	

	IgG			
	Media	SD (mg/dl)	CV	%
nella serie (n= 10)				
campione 1	1299.80	20.78	1.60	
campione 2	1869.18	26.68	1.43	
tra le serie (n= 20)				
campione 1	1302.32	21.90	1.68	
campione 2	1863.52	25.23	1.35	
	IgM			
	media	SD (mg/dl)	CV	%
nella serie (n= 10)				
campione 1	101.00	2.59	2.57	
campione 2	270.60	3.37	1.25	
tra le serie (n= 20)				
campione 1	102.10	2.30	2.25	
campione 2	268.60	4.05	1.51	

## Range di misura

IgA	70 - 1050 mg/dl
IgG	300 - 3500 mg/dl
IgM	40 - 500 mg/dl

## CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali. Per un corretto smaltimento dei rifiuti fare riferimento alla normativa vigente e alle schede informative in materia di sicurezza.

## INTERVALLI DI RIFERIMENTO

IgA	90 - 450 mg/dl
IgG	800 - 1800 mg/dl
IgM	60 - 280 mg/dl

## CONFEZIONI

Multipla IgA - IgG - IgM 3 x 5 pozzetti

## BIBLIOGRAFIA

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

## PRODUTTORE

## Meridian Healthcare srl

Via Caronda, 446 SC/A - 95129 Catania - Italy  
Tel. +39 095 725 68 69 - Fax: +39 095 725 44 54  
info@meridianhealthcare.it  
www.meridianhealthcare.it



## LEGENDA SIMBOLI

	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso
	Solo per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Conservare a 2-8°C
	N°determinazioni per kit
	Usare entro
	Numero del lotto
	Fabbricante
	Non riutilizzare
	Codice #