

Determinación de la proteína por inmunodifusión radial

FUNDAMENTO

La proteína a analizar, al difundir en gel de agarosa en el que se ha disuelto el anticuerpo específico, forma un inmunocomplejo visible como un anillo alrededor del pocillo de siembra. El diámetro de este anillo es proporcional a la concentración de la proteína analizada.

Esta proporcionalidad esta en función del tiempo de migración. De hecho cuando la migración ha terminado (96 horas para IgM), el cuadrado del diámetro es linealmente proporcional a la concentración (*procedimiento 1*). Mientras que para tiempos inferiores, el cuadrado del diámetro es logarítmicamente proporcional a la concentración (*procedimiento 2*). En estos dos casos, es necesario construir una curva de calibración utilizando al menos tres puntos de calibración.

Junto a la placa, se adjunta una tabla de correlación en la que a cada diámetro del proceso de difusión terminado, viene asociada una concentración (*procedimiento 3*).

MUESTRAS

Suero ó plasma.
Estabilidad 6 días a 4 °C.

REACTIVOS

Placa de gel de agarosa que contiene el antisuero específico frente a las proteínas a analizar.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Las placas estan listas para su uso. Los Reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Conservar a 2-8°C
Estabilidad después de la apertura: 2 semanas si, después del primer uso, bien conservado a 2-8°C.
La placa puede ser utilizado por otras dos semanas para comprobar la exactitud por medio de un suero de control.

EQUIPO ADICIONAL

Micropipetas de 5 µl, adusta la lectura de los anillos. Equipamiento habitual de laboratorio.

PRECAUCIONES

Evitar el contacto con la piel y mucosas. No ingerir. Deben cumplirse las Buenas Practicas de Laboratorio más usuales (BPL).

PROCEDIMIENTO ANALITICO

Dejar que la placa alcance la temperatura ambiente, abrirla y esperar que la posible condensación presente en los pocillos de siembra se evapore. Pipetear 5 µL de muestra y/o controles y esperar la completa reabsorción de los mismos. Cerrar la placa y colocarla en una cámara húmeda durante el tiempo necesario para el desarrollo del análisis.

Para la IgM 96 horas para el procedimiento 1 ó 3 y 24 horas para el procedimiento 2.

Para acelerar el tempo de análisis puede poner las placas se incuban.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Medir el anillo de precipitación, con un sistema que asegure un error máximo de 0.1 mm, al tiempo establecido de acuerdo al procedimiento aplicado y al tipo de proteína

Para la IgM 96 horas para el procedimiento 1 ó 3 y 24 horas para el procedimiento 2.

PROCEDIMIENTO 1

Colocar en un papel milimetrado, el cuadrado de los anillos de precipitación y la concentración de

los controles utilizados. Se debe obtener una recta con una intercepción comprendida entre 10-11 mm. Los valores de las muestras se obtienen por interpolación.

PROCEDIMIENTO 2

Colocar en papel milimetrado, el cuadrado de los anillos de precipitación frente al logaritmo de la concentración de los controles utilizados. Se debe obtener una curva que es practicamente una recta para los valores bajos mientras que para los valores altos se curva ligeramente. Los valores de las muestras se obtienen por interpolación.

PROCEDIMIENTO 3

Leer sobre la tabla que se adjunta, los valores de lectura en función del diámetro del anillo de precipitación. El suero de control, de utilizarse de acuerdo a este procedimiento, deberá dar un anillo de precipitación que difiera como máximo 0.2 mm del valor incluido en la tabla.

OBSERVACIONES

El tiempo de difusión y por tanto el tiempo de lectura depende de la concentración y del tipo de proteína analizada. Después de 96 horas, la difusión de cualquier proteína a cualquier concentración habrá finalizado.

Para concentraciones no elevadas, es posible leer a tiempos notablemente inferiores (36 horas) aunque, en estos casos, es aconsejable realizar una nueva lectura después de 3-5 horas y comprobar que el diámetro del anillo de precipitación no ha variado y seguidamente calcular la concentración. Si se ha producido una variación, repetir la lectura después de otras 3-5 horas.

Sólo para uso diagnóstico in vitro.

CONTROL DE CALIDAD

Para un control de calidad adecuado se sugiere utilizar un control interno que no va incluido en el kit.

IC00400 Multiset multiparamétrica 4 x 1 ml

(para Alfa-1-glicoproteína ácida, C3, C4, IgA, IgG, IgM e Transferrina)

CARACTERISTICAS ANALITICAS

Correlación

Este ensayo (x) fue comparado con un método comercial similar (y). Los resultados fueron los siguientes:

IgM n = 70	
$y = 0,989x + 2,17$	$r = 0,9995$

Precisión

Intraserial (n= 10)	media	DE (mg/dl)	CV %
muestra 1	101.00	2.59	2.57
muestra 2	270.60	3.37	1.25

Interserial (n= 20)	media	DE (mg/dl)	CV %
muestra 1	102.10	2.30	2.25
muestra 2	268.60	4.05	1.51

Límites de medida

IgM 40 – 500 mg/dl

CONSIDERACIONES DE ELIMINACION

El producto no precisa ningún procedimiento de eliminación, excepto en el caso de que exista alguna regulación de las autoridades locales.

VALORES DE REFERENCIA

IgM 60 – 280 mg/dl

PRESENTACIÓN

CODIGO RK01000

IgM RID 15 tests

REFERENCIAS

Mancini e coll.-Immunochimistry. 2:235 (1965)

Fahey e coll.- J. Immunol. 94 : 84 (1965)

PRODUCTOR

LTA s.r.l.
Via Milano 15/F
20060 Bussero (Milano) - ITALY
tel. ++39 02 95409034
fax. ++39 02 95334185
e-mail. info@ltaonline.it
website. http://www.ltaonline.it

SÍMBOLOS

IVD	Sólo para su uso en diagnóstico in vitro
LOT	Lote de fabricación
REF	Numero de código
	Temperatura de conservación
	Fecha de caducidad
	Aviso, consultar documento adjunto
	Leer las instrucciones
	Riesgo biológico

Mod. 01.06 (ver. 1.2 - 13/09/2005)

