

α-1 Antitrypsin

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of α-1 Antitrypsin in human serum by turbidimetric assay

REF	Content
A00501	1x 10 mL α-1 Antitrypsin Antibody Reagent 5x 25 mL PEG6 Buffer
Additionally offered:	
A00704	5x 1 mL Protein Calibrator 5 Level Series
A00580	1x 1 mL Protein Calibrator High
A00703	1x 5 mL Protein Calibrator High
A00701	1x 1 mL Protein Calibrator Low
A00702	1x 5 mL Protein Calibrator Low
A00590	1x 1 mL Protein Control
A00800	1x 5 mL Protein Control
A08591	1x 1 mL Protein Control Low
A08823	1x 5 mL Protein Control Low

GENERAL INFORMATION

Method	Immunoturbidimetric
Reaction	Nonlinear, endpoint
Wavelength	340 nm
Assay Temperature	18 – 37 °C
Sample	Serum
Measuring Range	approx. 0 – 400 mg/dL
Sensitivity	8 mg/dL (Cobas Mira)
Hook Effect	without sample dilution: > 600 mg/dL (Cobas Mira) with sample dilution: > 800 mg/dL (Cobas Mira)
Manual Test Procedure	Tests/Kit*
without sample dilution	80
with sample dilution	125
Automated Test Procedure	
Instrument dependent – please ask for applications	

* calculated on amount of antibody reagent; additional buffer on request

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS	FINAL CONCENTRATION
α-1 Antitrypsin Antibody Reagent	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for α-1 Antitrypsin	variable
Sodium azide	0.095 %
PEG6 Buffer	
Phosphate buffered saline	
PEG	6 %
Sodium azide	0.095 %

REAGENT PREPARATION

The reagents are liquid and ready to use.

REAGENT STABILITY AND STORAGE

Conditions:	Protect from light. Close immediately after use.	
Stability:	at 2 – 8 °C	up to the expiration date
	at 18 – 25 °C	1 month

Do not freeze!

SAMPLE STABILITY AND STORAGE

Stability:	at 2 – 8 °C	48 hours
	at – 20 °C	3 months

Freeze only once!

MANUAL TEST PROCEDURE

Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use
 Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator with 0.9% saline as diluent or use the 5 level calibrator series. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes:	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrs./Samples	2 µL	2 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	125 µL	125 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Test Procedure with Sample Dilution:

Sample/ Control: dilute 1:10 in saline 0.9%
 Calibration curve: Use Protein Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 dilutions with 0.9% saline as diluent. Use 0.9% saline as zero point.

Pipette into test tubes	Calibrators	Samples/Controls
Buffer	900 µL	900 µL
Cal./Ctrs./Samples	10 µL	10 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	80 µL	80 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

CALCULATION

Calculate and plot $\Delta A = (A2 - A1)$ of the calibrators versus assigned concentration values on a linear-linear graph paper. Calculate ΔA optical densities of samples and control(s) and read values in mg/dL on the reference curve. Samples yielding absorbances above highest calibrator should be retested after further dilution.

REFERENCE RANGE

89 – 205 mg/dL (IFCC)
 It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of α-1 Antitrypsin is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes. The formation of the complexes is accelerated and enhanced by PEG.

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

α-1 Antitrypsin is an acute phase protein, it inhibits proteinase and serine proteases. α-1 Antitrypsin has a strong binding constant for leukocyte elastase. Increased serum levels are found in: acute infection and inflammation, acute malaria, pregnancy (in 100%), anabolic steroid therapy, advanced malignant tumours. Decreased serum levels are found in: congenital deficiencies, juvenile cirrhosis, lung emphysema, testosterone administration.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

ACCURACY

Controls were assayed in duplicate on a Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Immunology 1 (Ciba Corning)	95 (76 - 114)	104
Immunology 2 (Ciba Corning)	189 (151 - 227)	207
Liquicheck 1 (Biorad)	79 (63 - 94)	88
Liquicheck 2 (Biorad)	176 (141 - 211)	174
Seronorm L (Nycomed)	66 (53 - 79)	73
Seronorm N (Nycomed)	159 (127 - 191)	166
Seronorm H (Nycomed)	229 (183 - 275)	240

PRECISION

Intra-Assay Precision

3 Serum Samples were consecutively measured on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V.
Low	20	55.2	0.83	1.51
Medium	20	134.6	2.26	1.68
High	20	267.1	12.79	4.79

Inter-Assay Precision

After calibration a control serum was run every day in duplicate for about 2 weeks.

Control	n	Mean	S.D.	C.V.
Dialab	27	131.6	2.75	2.09

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 1.0041x + 2.9236$; $r = 0.9934$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Sodium-Citrate	1000 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Triglycerides	2500 mg/dL	Heparin	50 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL		

QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with α-1 Antitrypsin values measured by this method may be used. We recommend the Dialab Protein Control and the Protein Control Low.

CALIBRATION

The assay requires the use of α-1 Antitrypsin serum Calibrators. We recommend the Dialab Protein Calibrator 5 Level Series, the Protein Calibrator High or the Protein Calibrator Low.

AUTOMATION

Applications for automated systems (with and without sample dilution) are available upon request.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- The α-1 Antitrypsin reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- Sodium azide has been reported to form lead or copper azide in laboratory plumbing which may explode on percussion.
- Each donor unit used in the preparation of the standards and controls was found to be negative for the presence of HIV antibodies, as well as for Hepatitis B surface antigen, using a method approved by the FDA

WASTE MANAGEMENT

Please refer to local requirements.

REFERENCES

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
- Naito, H.K., J. Clin. Immunoassay, 9, 155 (1986)
- Kottke, B.A. et al., Mayo Clin. Proc. 61, 313 (1986)



α-1 Antitrypsin

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von α-1 Antitrypsin in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF	Inhalt
A00501	1x 10 mL α-1 Antitrypsin Antikörperreagenz 5x 25 mL PEG6 Puffer
Zusätzlich wird angeboten:	
A00704	5x 1 mL Protein Kalibrator 5 Level Serie
A00580	1x 1 mL Protein Kalibrator Hoch
A00703	1x 5 mL Protein Kalibrator Hoch
A00701	1x 1 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00702	1x 5 mL Protein Kalibrator Niedrig
A00590	1x 1 mL Protein Kontrolle
A00800	1x 5 mL Protein Kontrolle
A08591	1x 1 mL Protein Kontrolle Niedrig
A08823	1x 5 mL Protein Kontrolle Niedrig

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode:	Immunoturbidimetrisch
Reaktion:	Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge:	340 nm
Testtemperatur:	18 – 37 °C
Probe:	Serum
Messbereich:	ca. 0 – 400 mg/dL
Sensitivität:	8 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt	ohne Probenverdünnung: > 600 mg/dL (Cobas Mira) mit Probenverdünnung: > 800 mg/dL (Cobas Mira)

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung	80
mit Probenverdünnung	125

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

* berechnet aufgrund der Menge des Antikörperreagenz; zusätzlicher Puffer auf Anfrage

REAGENZENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN	ENDKONZENTRATION
α-1 Antitrypsin Antikörperreagenz	
Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für α-1 Antitrypsin	
Natriumazid	variabel
	0,095 %
PEG6 Puffer	
Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung	
PEG	6 %
Natriumazid	0,095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Bedingungen:	Vor Licht schützen. Nach Verwendung sofort verschließen.	
Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C	bis zum Verfallsdatum
	bei 18 – 25 °C	1 Monat

Nicht einfrieren!

PROBENSTABILITÄT UND -LAGERUNG

Haltbarkeit:	bei 2 – 8 °C	48 Stunden
	bei – 20 °C	3 Monate

Nur einmal einfrieren!

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig

Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen oder die 5 Level Kalibratorserie verwenden. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	2 µL	2 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	125 µL	125 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Berechnung: $\Delta A = (A2 - A1)$		

Testdurchführung mit Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: 1:10 mit 0,9% Kochsalzlösung verdünnen
 Kalibrationskurve: mit dem Protein Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 und 1:160 Verdünnung mit 0,9 % Kochsalzlösung herstellen. 0,9 % Kochsalzlösung als Nullpunkt verwenden.

In Küvetten pipettieren	Kalibratoren	Proben/Kontrollen
Puffer	900 µL	900 µL
Kal./Ktrl./Proben	10 µL	10 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	80 µL	80 µL
Mischen. 5 min. bei Testtemperatur inkubieren. A2 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen.		

BERECHNUNG

Das $\Delta A = (A2 - A1)$ jedes Kalibrators berechnen und gegen die angegebenen Konzentration auf einem linearen Millimeterpapier auftragen. Die ΔA optischen Dichten von Proben und Kontrolle(n) berechnen und die Werte in mg/dl auf der Referenzkurve ablesen. Proben mit Absorptionen über dem höchsten Kalibrator sollten nach Verdünnung nochmals getestet werden.

REFERENZBEREICH

89 – 205 mg/dL (IFCC)

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für α-1 Antitrypsin basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung. Die Bildung dieser Komplexe wird durch PEG beschleunigt und verbessert.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

α-1 Antitrypsin ist ein Akutphasen-Protein, das Proteinase und Serin-Proteasen inhibiert. α-1 Antitrypsin hat eine hohe Affinität zu Leukozyten-Elastase. Erhöhte Serumwerte findet man bei: akuten Infektionen und Entzündungen, akuter Malaria, Schwangerschaft (zu 100%), Therapie mit anabolen Steroiden, fortgeschrittenen bösartigen Tumoren. Erniedrigte Serumwerte findet man bei: angeborenen Schwächen, juveniler Zirrhose, Lungenemphysemen, Einnahme von Testosteron.

LEISTUNGSMERKMALE

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden am Cobas Mira in Doppelbestimmung getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Immunology 1 (Ciba Corning)	95 (76 - 114)	104
Immunology 2 (Ciba Corning)	189 (151 - 227)	207
Liquicheck 1 (Biorad)	79 (63 - 94)	88
Liquicheck 2 (Biorad)	176 (141 - 211)	174
Seronorm L (Nycomed)	66 (53 - 79)	73
Seronorm N (Nycomed)	159 (127 - 191)	166
Seronorm H (Nycomed)	229 (183 - 275)	240

PRÄZISION

3 Serumproben innerhalb der Serie

3 Serumproben wurden nacheinander auf dem Cobas Mira getestet.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	55.2	0.83	1.51
Mittel	20	134.6	2.26	1.68
Hoch	20	267.1	12.79	4.79

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurde ein Kontrollserum 2 Wochen lang täglich in Doppelbestimmung gemessen.

Kontrolle	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Dialab	27	131.6	2.75	2.09

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:

$$y = 1.0041x + 2.9236; r = 0.9934$$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Natrium-Citrat	1000 mg/dL	Hämoglobin	1000 mg/dL
Triglyceride	2500 mg/dL	Heparin	50 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL		

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollseren, bei denen α-1 Antitrypsin mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab Protein Kontrolle und die Protein Kontrolle Niedrig.

KALIBRATION

Für diesen Test werden α-1 Antitrypsin Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen die Dialab Protein Kalibrator 5 Level Serie, den Protein Kalibrator Hoch oder den Protein Kalibrator Niedrig.

AUTOMATISIERUNG

Applikationen für automatisierte Systeme (mit und ohne Probenverdünnung) sind auf Anfrage erhältlich.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die α-1 Antitrypsin Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spenderreinheit, die für die Herstellung der Standards und Kontrollen verwendet wurde, wurde negativ auf HIV-Antikörper und Hepatitis B Oberflächen-Antigen unter Verwendung einer FDA-geprüften Methode getestet

ABFALLENTSORGUNG

Die lokalen Bestimmungen sind zu beachten.

BIBLIOGRAPHIE

- Dati, F et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)
- Naito, H.K., J. Clin. Immunoassay, 9, 155 (1986)
- Kotke, B.A. et al., Mayo Clin. Proc. 61, 313 (1986)

