

α-2 Macroglobulin

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of α-2 Macroglobulin in human serum by turbidimetric assay

REF	Content
A00505	1x 10 mL α-2 Macroglobulin 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 – 600 mg/dL
Sensitivity	3 mg/dL (Cobas Mira)
Hook Effect	without sample dilution: > 5000 mg/dL (Cobas Mira) with sample dilution: > 5000 mg/dL (Cobas Mira)
Manual Test Procedure	Tests/Kit*
without sample dilution	166
with sample dilution	333

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-2 Macroglobulin Antibody Reagent	
Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for α-2 Macroglobulin	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./Ctrls/Samples	5 µL	5 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	60 µL	60 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./Ctrls/Samples	35 µL	35 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Antibody Reagent	30 µL	30 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

Men	119 - 254 mg/dL (IFCC)
Women	132 - 301 mg/dL (IFCC)

It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of α-2 Macroglobulin is based on turbidimetric measurement. Turbidity is caused by the formation of antigen-antibody insoluble immuno complexes.

DIAGNOSTIC IMPLICATIONS

α-2 Macroglobulin has different biological functions: proteinase (endopeptidases) inhibition, transportation of enzymes and hormones and some immunological functions as inhibition of lymphoblastic transformation in pregnancy which has its significance in fetomaternal relationships. Increased levels are reported in nephrotic syndrome, pregnancy, liver diseases, diabetes mellitus, inflammatory diseases, bronchopneumonia, congenital cardiac disease. Decreased levels are reported in fibrinolysis, acute pancreatitis, biliary or renal stones, liver tumors, gastroduodenal ulcers, myocardial infarction.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

3 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

Controls from different companies were measured on the Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Immunology 1 (Ciba Corning)	91 (73.0 – 109)	105.2
Immunology 2 (Ciba Corning)	243 (194 – 292)	236.2
Liquicheck 1 (Biorad)	113 (90 – 135)	124.1
Liquicheck 2 (Biorad)	392 (314 – 470)	438.6
Seronorm L (Nycomed)	90 (72 – 108)	96.4
Seronorm N (Nycomed)	220 (176 – 264)	249.1
Seronorm H (Nycomed)	411 (329 – 493)	476.6

PRECISION

Intra-Assay Precision

3 Serum Samples (Low-Medium-High) were consecutively measured 20 times on the Cobas Mira.

Expected Value	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	85.2	2.09	2.45
Medium	20	200.3	5.46	2.73
High	20	404.9	15.28	3.77

Inter-Assay Precision

A Control serum (DIALAB) was measured daily on the Cobas Mira after calibration.

Control	n	Mean	S.D.	C.V.
Dialab	25	186.5	4.47	2.4

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 1.0563 x + 2.6765$; $r = 0,9945$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Sodium-Citrate	1000 mg/dL	Hemoglobin	1000 mg/dL
Triglycerides	2500 mg/dL	Heparin	50 mg/dL
Turbidity	5 %		

High concentrations of Bilirubin (10 – 20 mg/dL) interfere with the α-2 Macroglobulin determination.

QUALITY CONTROL

All commercially available Control sera with α-2 Macroglobulin 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-2 Macroglobulin 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-2 Macroglobulin 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

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



α-2 Macroglobulin

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von α-2 Macroglobulin in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF

Inhalt

A00505 1x 10 mL α-2 Macroglobulin 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 – 600 mg/dL
Sensitivität: 3 mg/dL (Cobas Mira)
Hook-Effekt ohne Probenverdünnung: > 5000 mg/dL (Cobas Mira)
 mit Probenverdünnung: > 5000 mg/dL (Cobas Mira)

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung 166
 mit Probenverdünnung 333

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

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

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN **ENDKONZENTRATION**
α-2 Macroglobulin Antikörperreagenz
 Turbidimetrisch-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für α-2 Macroglobulin
 variabel
 Natriumazid 0.095 %

PEG6 Puffer

Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
 PEG 6 %
 Natriumazid 0.095 %

REAGENZENVORBEREITUNG

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

REAGENZIENSTABILITÄT 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	5 µL	5 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	60 µL	60 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	35 µL	35 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	30 µL	30 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

Männer: 119 - 254 mg/dL

Frauen: 132 - 301 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für α-2 Macroglobulin basiert auf turbidimetrischer Messung. Durch Bildung von unlöslichen Antigen-Antikörper Immuno-Komplexen kommt es zu einer Trübung.

DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG

α-2 Macroglobulin hat unterschiedliche biologische Funktionen: Proteinase (Endopeptidasen) Inhibierung, Transport von Enzymen und Hormonen sowie einige immunologische Funktionen wie die Inhibierung lymphoblastischer Transformation in der Schwangerschaft, was bei fetomaternalen Beziehungen eine Rolle spielt. Erhöhte Werte findet man bei: nephrotischem Syndrom, Schwangerschaft, Lebererkrankungen, Diabetes mellitus, entzündlichen Erkrankungen, Bronchopneumonie, angeborenen Herzfehlern. Erniedrigte Werte findet man bei: Fibrinolyse, akuter Pancreatitis, Gallen- oder Nierensteinen, Lebertumoren, Gastrointestinalgeschwüren, Myokardinfarkten.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

3 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Kontrollen verschiedener Hersteller wurden auf dem Cobas Mira getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Immunology 1 (Ciba Corning)	91 (73.0 - 109)	105.2
Immunology 2 (Ciba Corning)	243 (194 - 292)	236.2
Liquicheck 1 (Biorad)	113 (90 - 135)	124.1
Liquicheck 2 (Biorad)	392 (314 - 470)	438.6
Seronorm L (Nycomed)	90 (72 - 108)	96.4
Seronorm N (Nycomed)	220 (176 - 264)	249.1
Seronorm H (Nycomed)	411 (329 - 493)	476.6

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

3 Serumproben (Niedrig-Mittel-Hoch) wurden nacheinander je 20x auf dem Cobas Mira getestet.

Erwarteter Wert	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Niedrig	20	85.2	2.09	2.45
Mittel	20	200.3	5.46	2.73
Hoch	20	404.9	15.28	3.77

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurde ein Kontrollserum (DIALAB) täglich auf dem Cobas Mira gemessen.

Kontrolle	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Dialab	25	186.5	4.47	2.4

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:
 $y = 1.0563x + 2.6765$; $r = 0,9945$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Natrium-Citrat 1000 mg/dL Hämoglobin 1000 mg/dL
 Triglyceride 2500 mg/dL Heparin 50 mg/dL
 Trübung 5 %

Hohe Bilirubin-Konzentrationen (10 – 20 mg/dL) stören die α-2 Macroglobulin Bestimmung.

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle kommerziell erhältlichen Kontrollseren, bei denen α-2 Macroglobulin 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-2 Macroglobulin 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-2 Macroglobulin Reagenzien sind nur für die In-Vitro-Diagnostik.
- Natriumazid bildet Blei- oder Kupferazide in Laborleitungen, was bei Erschütterung zu Explosionen führen kann.
- Jede Spendereinheit, 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

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

