

Apolipoprotein A1

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of APO A1 (Apolipoprotein A1) in human serum by turbidimetric assay

REF

Content

A00506 1x 10 mL APO A1 Antibody Reagent
 5x 25 mL APO A1/A2/B Buffer

Additionally offered:

A00716 1x 1 mL APO A1/A2/B Calibrator High
 A00806 1x 1 mL APO A1/A2/B Control

GENERAL INFORMATION

Method Immunoturbidimetric
Reaction Nonlinear, endpoint
Wavelength 340 nm
Assay Temperature 18 – 37 °C
Sample Serum
Measuring Range approx. 0 – 300 mg/dL
Sensitivity 4 mg/dL
Hook Effect without sample dilution: > 2500 mg/dL
 with sample dilution: > 3000 mg/dL

Manual Test Procedure Tests/Kit*

without sample dilution 100
 with sample dilution 166

Automated Test Procedure

Instrument dependent – please ask for applications

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

REAGENT COMPOSITION

COMPONENTS FINAL CONCENTRATION

APO A1 Antibody Reagent
 Turbidimetric grade antibody raised in the goat, monospecific for APO A1 variable
 Sodium azide 0.095 %

APO A1/A2/B Buffer
 Phosphate buffered saline
 PEG 6 %
 Sodium azide 0.095 %
 Detergent 0.1 %

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 up to 1 week
 at – 20 °C 3 months

Freeze only once!

MANUAL TEST PROCEDURE

Test Procedure without Sample Dilution:

Samples/Controls: ready to use
 Calibration curve: Use APO A1/A2/B Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:2 serial dilutions of the calibrator 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	3 µL	3 µL
Mix. Read A1 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Then add:		
Latex Reagent	100 µL	100 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 APO A1/A2/B Calibrator High to generate a calibration curve by making 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 and 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	10 µL	10 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: $\Delta A = (A2 - A1)$		

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: 107 – 177 mg/dL
 Women: 107 – 205 mg/dL

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

TEST PRINCIPLE

The assay of APO A1 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

APO A1 is the main protein component of HDL (High Density Lipoprotein). APO A1 activates lecithin cholesterol acyltransferase which catalyses the esterification of cholesterol. The resulting esterified cholesterol can then be transported to the liver, metabolised and excreted. Persons with atherosclerotic vascular changes frequently exhibit decreased levels of APO A1. Even if the concentrations of APO B are normal, a decreased APO A1 level may be a risk factor for atherosclerotic processes. Decreased levels of APO A1 also occur in dyslipoproteinemias, acute hepatic cirrhosis and insulin-treated patients.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

4 mg/dL

ACCURACY

Controls are assayed in duplicate on Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
DIALAB	102 (87 – 117)	104
Behring	152 (129 – 175)	144
Biorad	135 (108 – 162)	152

PRECISION

Intra-Assay Precision

The APO A1 concentration (mg/dl) of an unknown serum sample was measured 10 times and the variation coefficient determined.

Analyzer	n	Mean	S.D.	C.V
Cobas Mira	10	154	2.45	1.60

Inter-Assay Precision

After calibration an unknown serum sample was measured on 7 different days during two weeks. The Serum was stored at + 4°C.

Analyzer	n	Mean	S.D.	C.V.
Cobas Mira	7	157	2.57	1.63

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 0.9272x + 13.115$; $r = 0.99$

INTERFERING SUBSTANCES

No interference up to:

Triglycerides 2500 mg/dL Hemoglobin 1000 mg/dL
 Bilirubin 20 mg/dL Sodium Citrate 1000 mg/dL
 Turbidity 5 %

QUALITY CONTROL

All Control sera with APO A1 values measured by this method may be used. We recommend the Dialab APO A1/A2/B Control.

CALIBRATION

The assay requires the use of APO A1 serum Calibrators. We recommend the Dialab APO A1/A2/B Calibrator High.

AUTOMATION

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

WARNINGS AND PRECATIONS

- The APO A1 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

- Rifai, N., Ann. Clin. Lab. Science. 18, 429 (1988)
- Gordon, T. et al., Ann. J. Med. 62, 707 (1977)
- Rieser, W. et al., Atherosclerosis 37, 157 (1980)
- Alanpovic, P., Ann. Biol. Clin. 38, 83 (1980)
- Dati, F. et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)



Apolipoprotein A1

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von APO A1 (Apolipoprotein A1) in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF

Inhalt

A00506 1x 10 mL APO A1 Antikörperreagenz
 5x 25 mL APO A1/A2/B Puffer

Zusätzlich wird angeboten:

A00716 1x 1 mL APO A1/A2/B Kalibrator Hoch
 A00806 1x 1 mL APO A1/A1/B Kontrolle

ALLGEMEINE INFORMATION

Methode: Immunturbidimetrisch
Reaktion: Nicht-linear, Endpunkt
Wellenlänge: 340 nm
Testtemperatur: 18 – 37 °C
Probe: Serum
Messbereich: ca. 0 – 300 mg/dL
Sensitivität: 4 mg/dL
Hook-Effekt ohne Probenverdünnung: > 2500 mg/dL
 mit Probenverdünnung: > 3000 mg/dL

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung 100
 mit Probenverdünnung 166

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

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

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

APO A1 Antikörperreagenz
 Turbidimetrie-Grade-Antikörper aus der Ziege,
 monospezifisch für APO A1 variabel
 Natriumazid 0.095 %

APO A1/A2/B Puffer
 Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung
 PEG 6 %
 Natriumazid 0.095 %
 Detergenz 0.1 %

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 bis zu 1 Woche
 bei – 20 °C 3 Monate

Nur einmal einfrieren!

MANUELLE TESTDURCHFÜHRUNG

Testdurchführung ohne Probenverdünnung:

Proben/Kontrollen: gebrauchsfertig
 Kalibrationskurve: mit dem APO A1/A2/B Kalibrator Hoch eine Kalibrationskurve erstellen. Dazu eine serielle 1:2 Verdünnung des Kalibrators 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	3 µL	3 µL
Mischen. A1 der Kalibratoren und Proben/Kontrollen bei 340 nm ablesen. Dann zufügen:		
Antikörperreagenz	100 µL	100 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 APO A1/A2/B 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	60 µL	60 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: 107 – 177 mg/dL

Frauen: 107 – 205 mg/dL

Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für APO A1 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

APO A1 ist die Hauptprotein Komponente des HDL (High Density Lipoprotein). APO A1 aktiviert die Lecithin- Cholesterin Acyltransferase, die die Veresterung des Cholesterins katalysiert. Das veresterte Cholesterin kann dann zur Leber transportiert, metabolisiert und ausgeschieden werden. Bei Personen mit arthrosklerotischen Gefäßänderungen können oft erniedrigte Werte von APO A1 gemessen werden. Auch wenn die Konzentration an APO B normal ist, bedeutet eine erniedrigte APO A1 Konzentration ein Risiko für Arthrosklerotische Prozesse. Erniedrigte Konzentrationen kommen auch in Dyslipoproteinämie, akuter hepatischer Zirrhose und Insulinbehandelten Patienten vor.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

4 mg/dL

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden in Doppelbestimmung auf dem Cobas Mira getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
DIALAB	102 (87 – 117)	104
Behring	152 (129 – 175)	144
Biorad	135 (108 – 162)	152

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

Die APO A1 Konzentration (mg/dl) einer unbekanntenen Probe wurde 10x gemessen und der Variationskoeffizient bestimmt.

Analyser	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Cobas Mira	10	154	2.45	1.60

Präzision zwischen den Serien

Nach Kalibration wurde eine unbekanntene Probe an 7 Tagen über 2 Wochen gemessen. Das Serum wurde bei +4°C gelagert.

Analyser	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
Cobas Mira	7	157	2.57	1.63

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:

$$y = 0.9272 x + 13.115; r = 0.99$$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Keine Interferenzen bis:

Triglyceride	2500 mg/dL	Hämoglobin	1000 mg/dL
Bilirubin	20 mg/dL	Natrium-Citrat	1000 mg/dL
Trübung	5 %		

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Kontrollseren, bei denen APO A1 mit dieser Methode gemessen wurde, können verwendet werden. Wir empfehlen die Dialab APO A1/A2/B Kontrolle.

KALIBRATION

Für diesen Test werden APO A1 Serumkalibratoren benötigt. Wir empfehlen den Dialab APO A1/A2/B Kalibrator Hoch.

AUTOMATISIERUNG

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

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die APO A1 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

- Rifai, N., Ann. Clin. Lab. Science. 18, 429 (1988)
- Gordon, T. et al., Ann. J. Med. 62, 707 (1977)
- Rieser, W. et al., Atherosclerosis 37, 157 (1980)
- Alanovic, P., Ann. Biol. Clin. 38, 83 (1980)
- Dati, F. et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)

