

Order information:

Catalog-No.	Contents
H0801 Hit 1 / 917 (Ilab* / AU*)	R1 6 x 19 ml R2 6 x 5 ml

(*) Kit contains only reagent barcode for Hitachi system.

System information:

Hitachi 911/917: ACN 168
For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of Apolipoprotein A-1 in human serum and plasma.

Summary:

Apolipoprotein A-1 is the main component of the high-density lipoprotein class. It accounts for approximately 30 % of the HDL-particle. Apolipoprotein A-1 originates in equal amounts from the small intestine and the liver. It has a physiological role due to its cofactor activity in the lecithin-cholesterol-acryl-transferase (LCAT) reaction and its ability to take up free cholesterol from cells. These processes are important for the reverse cholesterol transport to the liver.

As published in the scientific literature, Apolipoprotein determinations are primarily used for the early detection and assessment of the individual coronary risk and for the diagnosis of the relatively rare (but only serious) apolipoproteinopathy, which is generally inherited. The determination of apolipoprotein A-1 is used in the detection of Tangier disease, an alpha lipoproteinemia (Apo A-1 low, cholesterol low). A positive angiography finding, i.e. the demonstration of stenosis, is associated with pathological Apo A-1/Apo B findings. The Apolipoprotein determinations supplement modern HDL, LDL and Lp(a) diagnostics.

The determination of apolipoprotein A-1 is made by immunoassay (RIA; ELISA), electroimmunodiffusion (EID), radial immunodiffusion, nephelometry or turbidimetry.

Test principle:

Immunoturbidimetric assay.
• Sample and addition of R1 (buffer)
• Addition of R2 (anti-apolipoprotein A-1-antibody) and start of reaction:

Anti-Apolipoprotein A-antibodies react with the antigen in the sample to form antigen/antibody complexes which, following agglutination, can be measured turbidimetrically.

Reagent concentration:

R1:	
Tris buffer pH 7.8	50 mmol/l
PEG	5 %
NaCl	150 mmol/l
Preservative/ Detergent	
R2:	
Polyclonal anti-human APO A-1 Antibody (goat)	dependent on titer
Tris buffer pH 7.8	150 mmol/l
NaCl	150 mmol/l
Preservative	

Preparation and stability:

R1: Ready for use.
R2: Ready for use.
Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C
Onboard stability at +2°C to +8°C: R1: 42 days
R2: 42 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes
Na-heparin, or EDTA plasma
Stability: 1 day at +15°C - +25°C
3 days at + 2°C - +8°C
2 months at - 20°C (only freeze once)

Centrifuge samples containing precipitates before performing the assay.

For analyzers with automatic sample predilution, the samples are prediluted with 0.9% NaCl solution by the instrument.

For analyzers without automatic sample predilution, manually predilute samples 1+20 with 0.9% NaCl solution.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 30 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 30 mg/dl).
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1000 (approximate haemoglobin concentration: 1000 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 1000 (approximate triglycerides concentration: 2000 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.
No high-dose hook-effect up to an apolipoprotein A-1 concentration of 600 mg/dl.
The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases. In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been

discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>. Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Testing procedure:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

- Working solutions as described above
- Additional materials required
- Controls and calibrators as indicated below
- 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength: 376 nm
Temperature: +37°C
Cuvette: 1cm
Zero adjustment: against blank

	Blank	Sample/ Calibrator
Sample/ Calibrator	---	12 µl
R1	500 µl	500 µl

Mix, incubate 5 min. and read A₁. Then add:

R2	100 µl	100 µl
----	--------	--------

Mix, incubate 5 min. and read A₂.

Calculation:

$$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$$

The concentration of Apo A-1 in patient sera has to be calculated from ΔA using mathematic function as logit/log or can be read from a graph using values of 4 levels of standards. For zero value is recommended to use saline solution (0.9%).

Measuring/reportable range:

Roche/Hitachi systems automatically calculate the apolipoprotein A-1 concentration of each sample.

Conversion factors: mg/dl x 0.01 = g/l
g/l x 100 = mg/dl

- Roche/Hitachi 902 analyzer:
20 - 400 mg/dl (0.20 - 4.00 g/l)

If the APO A-1 concentration of the sample is below the measuring range, manually dilute the samples 1+10 (instead of 1+20) with 0.9% NaCl solution. Multiply the result by the factor 0.523.

- Roche/Hitachi 904/911/912/917 analyzer:
20 - 400 mg/dl (0.20 - 4.00 g/l)*
Extended measuring range with rerun: 10 - 400 mg/dl (0.10 - 4.0 g/l).

Expected values:

Men: 104 - 202 mg/dl (1.04 - 2.02 g/l)
Women: 108 - 225 mg/dl (1.08 - 2.25 g/l)

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patients' population and if necessary determine its own reference range. For diagnostic purposes the APO A-1 results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

20.0 mg/dl (0.20 g/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable apolipoprotein A-1 concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using human samples and controls in an internal protocol (n = 12). The following results were obtained:

	within run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	86.8	1.21	1.39
Sample 2	153	2.42	1.58
Sample 3	172	1.92	1.12

Method comparison:

A comparison of the Analyticon APO A1 (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 50 samples the following result:
 $y = 0.981 x + 4.81$; $r = 0.991$

Turbitex® APO A1

APOLIPOPROTEIN A1



Quality Control:

Contropath® L 5 x 2 ml #1303
Contronorm® L 5 x 2 ml #1302

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: The apolipoprotein A-1 method was standardized using the WHO/IFCC SP1-01 reference standard (WHO-IRP 1992).

S1: 0,9% NaCl
S2 - S5: Bio Cal® L 1 x 2 ml #1401
5 x 2 ml #1402

• Hitachi 902 analyzer:

Dilute the Bio Cal L in the following manner to prepare S2 – S6:

No.	Dilution Sample + NaCl (0.9%)	Conversion factor
S2	1 + 100	0.208
S3	1 + 50	0.412
S4	1 + 20	1.000
S5	1 + 15	1.313
S6	1 + 9.5	2.000

Multiply the lot specific Bio Cal L value by the factors above to determine the standard concentrations for the 6-point calibration curve.

• Hitachi 904/911/912/917 analyzers:

Multiply the lot-specific Bio Cal L values by the factors given below to determine the standard concentrations for the 6-point calibration curve.

S2: 0.198 S5: 1.349
S3: 0.399 S6: 2.080
S4: 1.000

Calibration frequency

Full calibration is recommended:

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
2. Evans K, Mitcheson J, Laker M. Effect of Storage at 4°C and -20°C on Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Concentrations. Clin Chem 1995;41:392-396.
3. Greiling H, Gressner AM (Hrsg. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:325-326.
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
5. Karl J, Engel WD. Determination of Apolipoprotein A 1 and B without sample dilution. Poster presented at the 57th Meeting of the European Atherosclerosis Society, Lisbon and the IX European Congress of Clinical Chemistry, Cracow, 1991
6. Marcovina SM et al. Clin Chem 1994;40:586-592.
7. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens (29 CFR 1910 1030). Federal Register. July 1 1998;6: 267 280.
8. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
9. Richtlinie des Rates (90/679/EWG). Amtsblatt d. Europ. Gem. Nr. L374 vom 31.12.1990:1-12.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
H0801	Hit 1/917 (ILab* / AU*)
	R1 6 x 19 ml R2 6 x 5 ml

(*) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 168
Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von Apolipoprotein A-I in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Apolipoprotein A-1 ist der Hauptbestandteil der HDL-Dichteklasse. Sein Anteil am HDL-Partikel beträgt ca. 30%. Apolipoprotein A-I entstammt zu gleichen Teilen dem Dünndarm und der Leber. Seine physiologische Rolle besteht in der Cofaktoraktivität bei der Lecithin-Cholesterin-Acyl-Transferase (LCAT)-Reaktion und in der Fähigkeit, freies Cholesterin von Zellen aufzunehmen. Diese Vorgänge sind wichtig für den Cholesterinrücktransport zur Leber ("Reverse-Cholesterin-Transport"). Wie in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben, dienen Apolipoproteinbestimmungen in erster Linie der frühzeitigen Erkennung und Beurteilung des individuellen koronaren Risikos und für die Diagnose der relativ seltenen, aber sehr schwerwiegenden und meist erblich bedingten Apolipoproteinopathien. Die Bestimmung von Apolipoprotein A-I dient zur Erkennung der Tangier-Krankheit, einer Anaphalipoproteinämie (Apo A-1 niedrig, Cholesterin niedrig). Ein positiver Angiographiebefund, das heißt der Nachweis von Stenosen, geht mit pathologischen Apo A-1/Apo-B Befunden einher. Die Apolipoproteinbestimmungen ergänzen die moderne HDL-, LDL- und Lp(a)-Diagnostik. Die Bestimmung von Apolipoprotein A-1 erfolgt durch Immunoassays (RIA, ELISA), Elektroiimmunodiffusion (EID), radiale Immundiffusion, Nephelometrie oder Turbidimetrie.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest
• Probe und Zugabe von R1
• Zugabe von R2 (Anti-Apolipoprotein A-1-Antikörper) und Start der Reaktion:
Anti-Apolipoprotein A-1-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:
Tris Puffer pH 7,8 50 mmol/l
PEG 5 %
NaCl 150 mmol/l
Konservierungsmittel/ Detergenz

R2:
Polyklonaler Anti-Human-Apolipoprotein A-1
Antikörper (Ziege) abhängig vom Titer
Tris Puffer pH 7,8 150 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
Konservierungsmittel

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig
Ungeöffnete Packungsbestandteile: bei +2°C bis +8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum.
Onboard Stabilität bei +2°C bis +8°C: R1: 42 Tage
R2: 42 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
Li-Heparinat-, oder Na-EDTA-Plasma
Haltbarkeit: 1 Tag bei +20°C - +25°C
3 Tage bei + 4°C - + 8°C
2 Monate bei - 20°C (nur einmal einfrieren)

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Bei Geräten mit automatischer Probenverdünnung werden die Proben mit 0,9% NaCl-Lösung im Gerät vorverdünnt.

Bei Geräten ohne automatische Probenverdünnung müssen die Proben manuell 1+20 mit 0,9% NaCl-Lösung vorverdünnt werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.
Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten.
Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.
Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.
Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 30 (ca. 30 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).
Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1000 (ca. 1000mg/d Hämoglobin).
Lipämie: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1000 (ca. 2000 mg/dl Triglyceride).
Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.
Es wurde kein High-Dose-Hook-Effekt bis zu einer APO A-1 Konzentration von 600 mg/dl beobachtet.
Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen und Kalibratoren wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

- Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben
- Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	376 nm	
Temperatur:	37°C	
Schichtdicke:	1cm	
Messung:	gegen Reagenzienleerwert (RLW)	

	RLW	Probe/ Kalibrator
Probe/ Kalibrator	---	12 µl
R1	500 µl	500 µl

Mischen, 5 min. inkubieren und E₁ ablesen. Dann dazugeben:

R2	100 µl	100 µl
----	--------	--------

Mischen, 5 min. inkubieren und E₂ ablesen.

Berechnung:

$$\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ RLW}]$$

Die Konzentration von Apo A-1 in Patientenserum sollte aus dem ΔE der Probe mit Hilfe eines mathematischen Modells wie logit/log berechnet oder aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 4 Standards. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.

Messbereich:

Die Roche/Hitachi-Geräte berechnen automatisch die Apolipoprotein A-1-Konzentration jeder Probe.
Umrechnung: mg/dl x 0,01 = g/l
g/l x 100 = mg/dl

• Roche/Hitachi 902 Geräte:

20 - 400 mg/dl (0,20 - 4,00 g/l)*

Liegt die APO A1- Konzentration der Probe unterhalb des Messbereichs, wird die Probe manuell 1+10 (anstatt 1+20) mit 0,9% NaCl-Lösung verdünnt. Das Ergebnis mit dem Faktor 0,523 multiplizieren.

• Roche/Hitachi 904/911/912/917 Geräte:

20 - 400 mg/dl (0,20 - 4,00 g/l)*

Erweiterter Messbereich mit Rerun: 10 - 400 mg/dl (0,10 - 4,0 g/l)**

* Abhängig von der höchsten Standardkonzentration

** Ungefährer Wert, abhängig vom berechneten Wert der höchsten Standardkonzentration.

Referenzbereich:

Männer: 104-202 mg/dl bzw. 1,04-2,02 g/l

Frauen: 108-225 mg/dl bzw. 1,08-2,25 g/l

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die Apolipoprotein A-1-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

20 mg/dl bzw. 0,20 g/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren Apolipoprotein A-1-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Humanproben und Kontrollen gemäß einem internen Protokoll (n = 12) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	86,8	1,21	1,39
Probe 2	153	1,92	1,12
Probe 3	172	2,41	1,58

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon APO A-1 (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 50 Proben folgende Ergebnisse erhalten (mg/dl):
 $y = 0,981 x + 4,81$; $r = 0,991$

Qualitätskontrolle:

Controptath® L	5 x 2 ml	#1303
Contronorm® L	5 x 2 ml	#1302

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration:

Standardisierung: Die Apolipoprotein A-1-Methode wurde am WHO/IFCC SP1-01 Referenzstandard (WHO-IRP 1992) abgeglichen.

S1 : NaCl-Lösung (0,9%)

S2-S5: Bio Cal® L	1 x 2 ml	#1401
	5 x 2 ml	#1402

• Hitachi 902 analyzer:

Zur Herstellung von S2-S6 muss der Kalibrator Bio Cal L manuell wie folgt verdünnt werden:

Nr.	Verdünnungsverhältnis Probe + NaCl (0,9%)	Umrechnungsfaktor
S2	1 + 100	0.208
S3	1 + 50	0.412
S4	1 + 20	1.000
S5	1 + 15	1.313
S6	1 + 9.5	2.000

Zur Bestimmung der Standardkonzentrationen für die 6-Punkt-Kalibration sind die chargenspezifischen Bio Cal L Werte mit den o.g. Faktoren zu multiplizieren.

• Hitachi 904/911/912/917 Geräte:

Zur Bestimmung der Standardkonzentrationen für die 6-Punkt-Kalibration sind die chargenspezifischen Bio Cal L Werte mit folgenden Faktoren zu multiplizieren.

S2: 0.198	S5: 1.349
S3: 0.399	S6: 2.080
S4: 1.000	

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Bablok W et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.
2. Evans K, Mitcheson J, Laker M. Effect of Storage at 4°C and -20°C on Lipid, Lipoprotein, and Apolipoprotein Concentrations. Clin Chem 1995;41:392-396.
3. Greiling H, Gressner AM (Hrsg. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer, 1995:325-326.
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preamerical Variables. Broschüre in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT Verlag, 1996.
5. Karl J, Engel WD. Determination of Apotipoprotein A I and B without sample dilution. Poster presented at the 57th Meeting of the European Atherosclerosis Society, Lisbon and the IX European Congress of Clinical Chemistry, Cracow, 1991
6. Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens (29 CFR 1910 1030). Federal Register. July 1 1998;6: 267 280.
7. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-720.
8. Richtlinie des Rates (90/679/EWG). Amtsblatt d. Europ. Gem. Nr. L374 vom 31.12.1990:1-12.