

Apolipoprotein A2

Diagnostic reagent for the quantitative in vitro determination of APO A2 (Apolipoprotein A2) in human serum by turbidimetric assay

REF

Content

A00522 1x 5 mL APO A2 Antibody Reagent
 2x 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 – 100 mg/dL
Sensitivity 4 mg/dL
Hook Effect without sample dilution: > 570 mg/dL
 with sample dilution: > 570 mg/dL

Manual Test Procedure Tests/Kit*

without sample dilution 62
 with sample dilution 83

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 A2 Antibody Reagent
 Turbidimetric grade antibody raised in the goat,
 monospecific for APO A2 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	80 µL	80 µL
Mix. Incubate 5 minutes at assay temperature. Read A2 of calibrators and samples/controls at 340 nm. Calculate: $\Delta A = (A2 - A1)$		

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	20 µL	20 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

26 – 51 mg/dL
 It is recommended that each laboratory establishes its own normal range.

TEST PRINCIPLE

The assay of APO A2 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

Apolipoprotein A2 is a structural protein of HDL, which has phospholipid-binding properties. The synthesis site of Apo A2 is the liver. The percentage concentrations of Apo A2 in serum lipoprotein HDL is HDL2 (10 %) and HDL3 (23 %). No clear correlation could be observed between Apo A2 concentrations and coronary risk. In some centres Apo A2 is measured in order to obtain information on the HDL2 and HDL3 fractions from the ratio Apo A1 to Apo A2. Diminished Apo A2 levels have been reported in Tangier disease, in patients with a high consumption of cigarettes and in hepatic insufficiency. Elevated Apo AII levels have been found in cases of high alcohol consumption.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

SENSITIVITY

4 mg/dL (Cobas Mira)

ACCURACY

Controls are assayed in duplicate on Cobas Mira.

Control	Assigned Value (mg/dL)	Measured Value (mg/dL)
Behring	38.4 (32.6 – 44.2)	39.1

PRECISION

Intra-Assay Precision

Three sera were consecutively measured 20 times on the Cobas Mira.

Expected Values	n	Mean	S.D.	C.V
Low	20	22.2	0.48	2.16
Medium	20	33.2	0.68	2.07
High	20	60.1	0.89	1.47

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.

Sample	n	Mean	S.D.	C.V.
1	22	38.4	1.02	2.65
2	22	15.11	0.4	2.62

METHOD COMPARISON

A comparison with Nephelometry gave the following results:
 $y = 0.9480x - 0.1783$; $r = 0.998$

INTERFERING SUBSTANCES

Turbidimetry and particles in the sample can interfere with the test. Therefore particulates resulting from incomplete coagulation or denaturation of proteins should be removed prior to assay by centrifugation.

QUALITY CONTROL

All Control sera with APO A2 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 A2 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 PRECAUTIONS

- The APO A2 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

- Rífaí, 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)



Apolipoprotein A2

Diagnostisches Reagenz für den quantitativen Nachweis von APO A2 (Apolipoprotein A2) in Humanserum mittels turbidimetrischer Methode

REF

Inhalt

A00522 1x 5 mL APO A2 Antikörperreagenz
 2x 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 – 100 mg/dL
Sensitivität: 4 mg/dL
Hook-Effekt ohne Probenverdünnung: > 570 mg/dL
 mit Probenverdünnung: > 570 mg/dL

Manuelle Testdurchführung Tests/Kit*

ohne Probenverdünnung 62
 mit Probenverdünnung 83

Automatische Testdurchführung

Instrumentenabhängig - Applikationen auf Anfrage

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

REAGENZIENZUSAMMENSETZUNG

KOMPONENTEN ENDKONZENTRATION

APO A2 Antikörperreagenz
 Turbidimetrische-Grade-Antikörper aus der Ziege, monospezifisch für APO A2 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	80 µL	80 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	20 µL	20 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

26 – 51 mg/dL
 Jedes Labor sollte wenn möglich seinen eigenen Normalbereich ermitteln.

TESTPRINZIP

Dieser Test für APO A2 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

Apolipoprotein A2 ist ein Strukturprotein des HDL, welches Phospholipid-Bindungseigenschaften aufweist. APO A2 wird in der Leber synthetisiert. Die APO A2 Konzentration im Serum-Lipoprotein HDL beträgt für HDL2 10% und HDL3 23%. Es gibt keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen APO A2-Werten und dem Herzinfarktrisiko. In manchen Labors wird APO A2 bestimmt, um Informationen zu den HDL2- und HDL3-Fractionen des APO A1-APO A2 Verhältnisses zu erhalten. Erniedrigte APO A2 Werte findet man bei der Tangier-Krankheit, in Patienten mit hohem Zigaretten-Konsum und bei Leber-Insuffizienz. Erhöhte APO A2 Werte findet man bei starkem Alkoholkonsum.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT

4 mg/dL (Cobas Mira)

GENAUIGKEIT

Kontrollen wurden in Doppelbestimmung auf dem Cobas Mira getestet.

Kontrolle	Bestimmter Wert (mg/dL)	Gemessener Wert (mg/dL)
Behring	38.4 (32.6 – 44.2)	39.1

PRÄZISION

Präzision innerhalb der Serie

3 Seren wurden nacheinander je 20x auf dem Cobas Mira gemessen.

Erwartete Werte	n	Mittelwert	S.D.	C.V
Niedrig	20	22.2	0.48	2.16
Mittel	20	33.2	0.68	2.07
Hoch	20	60.1	0.89	1.47

Präzision zwischen den Serien

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

Probe	n	Mittelwert	S.D.	C.V.
1	22	38.4	1.02	2.65
2	22	15.11	0.4	2.62

METHODENVERGLEICH

Ein Vergleich mit Nephelometrie ergab folgende Ergebnisse:
 $y = 0.9480x - 0.1783$; $r = 0.998$

STÖRENDE SUBSTANZEN

Trübung und Partikel in der Probe können den Test beeinträchtigen. Daher sollten Partikel, aus unvollständiger Koagulation oder denaturierten Proteinen, vor der Testdurchführung durch Zentrifugieren entfernt werden

QUALITÄTSKONTROLLE

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

KALIBRATION

Für diesen Test werden APO A2 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 A2 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)
- Alanpovic, P., Ann. Biol. Clin. 38, 83 (1980)
- Dati, F. et al., Lab. Med. 13, 87 (1989)

