

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents
B9001	200 / 600	R1 12 x 50 ml
B9003	300 / 600*	R1 12 x 60 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

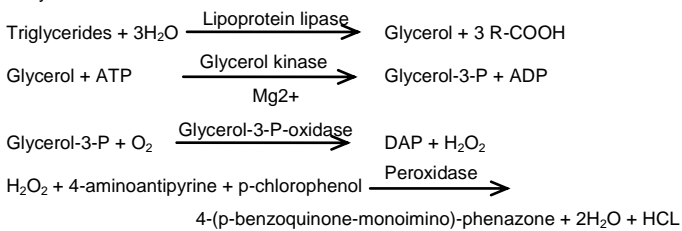
Enzymatic in vitro test for the quantitative determination of triglycerides in human serum and plasma.

Summary:

Triglycerides are esters of the trihydric alcohol glycerol with 3 long-chain fatty acids. They are partly synthesized in the liver and partly ingested in food. The determination of triglycerides is utilized in the diagnosis and treatment of patients having diabetes mellitus, nephrosis, liver obstruction, lipid metabolism disorders and numerous other endocrine diseases. The enzymatic triglycerides assay as described by Eggstein and Kreutz still required saponification with potassium hydroxide. Numerous attempts were subsequently made to replace alkaline saponification by enzymatic hydrolysis with lipase. Bucolo and David tested a lipase/protease mixture; Wahlefeld used an esterase from the liver in combination with a particularly effective lipase from *Rhizopus arrhizus* for hydrolysis. This method is based on the work by Wahlefeld using a lipoprotein lipase from microorganisms for the rapid and complete hydrolysis of triglycerides to glycerol followed by oxidation to dihydroxyacetone phosphate and hydrogen peroxide. The hydrogen peroxide produced then reacts with 4-aminophenazone and 4-chlorophenol under the catalytic action of peroxidase to form a red dye (Trinder endpoint reaction).

Test principle:

Enzymatic colorimetric test:



Reagent concentration:

R1:	
Pipes buffer pH 7.8	50 mmol/l
p-Chlorophenole	2 mmol/l
Lipoprotein lipase	150000 U/l
Glycerolkinase	800 U/l
Glycerol - 3 - P- oxidase	4000 U/l
Peroxidase	440 U/l
4-Aminoantipyrine	0.7mmol/l
ATP	0.3mmol/l
Mg ²⁺	40 mmol/l
Na-cholat	0.20 mmol/l
Potassium-Hexacyanoferrat(II)	1µmol/l

Preparation and stability:

R1: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiry date at +2°C to +8°C.

Onboard stability: R1 90 days

Coloration of the reagent (reagent blank at 546 nm, 1cm >0,2) indicates a contamination or damage by storage at higher temperatures.

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparinized or EDTA plasma.

Stability:

5 - 7 days at +2°C to +8°C
3 months at -20°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Blood samples should only be drawn prior to the administration of Metaminazole.

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.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.

Icterus: No significant interference up to an index I of 20 (approximate 20 mg/dl bilirubin).

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 400 (approximate hemoglobin concentration: 400 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): The Index L correlates with sample turbidity but not with triglycerides level. Extremely lipemic samples (triglycerides greater than 3000 mg/dl) can produce a normal result. Dilute such samples 1+4 with saline (0.9%) and multiply the result by 5.

False low results can occur in patients taking Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetyl cysteine (NAC) or Metamizole (Dipyrone). 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.

Testing procedure:

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

• 0.9% NaCl

Measuring /reportable range:

10 - 2000 mg/dl (0.11 – 22.6 mmol/l)

Determine samples with higher concentrations via the rerun function using 0.9% NaCl.

Expected values:

Clinical according to the recommendation of the European Arteriosclerosis Society.

lipid metabolism disorder		
Cholesterol	<200 mg/dl	no
Triglycerides	<200 mg/dl	no
Cholesterol	200 – 300 mg/dl	yes if HDL-CHOL < 35 mg/dl
Cholesterol	> 300 mg/dl	yes
Triglycerides	> 200 mg/dl	yes

Expected values according to NCEP

Normal value < 200 mg/dl (2.30 mmol/l)

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

Note:

If the free glycerol is to be taken into account, then 10 mg/dl (0.11 mmol/l) must be subtracted from the triglycerides value obtained. For control sera, note the target value declaration of the manufacturer.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 0.3 mg/dl (0.004 mmol/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable triglycerides concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using human samples the following results were obtained:

Within run			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Control serum 1	192,92	1,402	0,7
Control serum 2	144,30	1,677	1,2
Control serum 3	182,09	1,664	0,9

Run to run			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Control serum 1	193,03	8,824	4,6
Control serum 2	147,95	4,729	3,2
Control serum 3	183,99	7,35	4,0

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Fluitest TG (y) with a commercial obtainable assay (x) gave the following result:

y = 0.911x + 7.425;

r = 0.9992

Quality control:

Human Control Serum		
Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320
Human Lipid Control Serum		
Contronorm® L	5 x 2 ml	#1302
Contropath® L	5 x 2 ml	#1303

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:

Standardisation: The triglycerides GPO-PAP method was standardized against the ID-MS-method.

Calibration Type: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Calibration frequency:

Two point calibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

1. Bucolo G. David H. Clin Chem 1973;19:476
2. Eggstein M. Kreutz F. Klein Wschr 1966 44:262-267
3. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem. 1986;32:470-474
4. Greiling H., Gressner A.M. (ed.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3rd. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995
5. Shephard M.D.S., Whiting M.J. Clin Chem 1990; Vol 36, No 2,325-329. False Low Estimation of Triglycerides in Lipemic Plasma by the Enzymatic Triglyceride Method with Modified Trinder's Chromogen.
6. Siedel J et al. AACC Meeting Abstract 34. Clin Chem 1993;39:1127
7. Stein E.A., Myers G.L., National Cholesterol Education Program Recommendations for Triglyceridens Measurements: Executive Summary. Clin Chem 1995; 41:1421-1426
8. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77
9. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24
10. Wahlefeld A.W.; Bergmeyer H.U. (ed.) Methods of Enzymatic Analysis 2nd English ed. New York NY. academic Press Inc. 1974; 1831

Bioalyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Bioalyzer	Inhalt		
B9001	200 / 600	R1	12 x	50 ml
B9003	300 / 600*	R1	12 x	60 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

Enzymatischer in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Triglyceriden in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

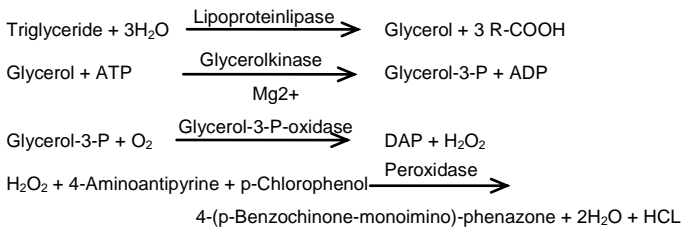
Triglyceride sind Ester des dreiwertigen Alkohols Glycerin mit 3 langkettigen Fettsäuren. Sie werden teilweise durch die Nahrung aufgenommen, teilweise in der Leber synthetisiert.

Die Triglyceridbestimmungen dienen zur Diagnose und Behandlung von Patienten mit Diabetes mellitus, Nephrose, Leberobstruktion, Lipidstoffwechselstörungen und zahlreichen endokrinologischen Krankheiten. Die enzymatische Triglyceridbestimmung, wie von Eggstein und Kreuz beschrieben, benötigte noch die Verseifung mit Kalilauge. Danach erfolgten zahlreiche Versuche, um die alkalische Verseifung durch eine enzymatische Hydrolyse mit Lipase zu ersetzen. Bucolo und David erprobten eine Mischung aus Lipase und einer Protease. Wahlefeld setzte eine Esterase aus der Leber kombiniert mit einer besonders effektiven Lipase aus *Rhizopus arrhizus* zur Hydrolyse ein.

Diese Methode beruht auf der Arbeit von Wahlefeld unter Verwendung einer Lipoproteinlipase aus Mikroorganismen zur schnellen und vollständigen Hydrolyse von Triglyceriden zu Glycerin mit anschließender Oxidation zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserstoffperoxid. Das entstandene Wasserstoffperoxid bildet unter katalytischer Wirkung der Peroxidase mit 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol in einer Endpunktreaktion nach Trinder einen roten Farbstoff.

Testprinzip:

Enzymatischer Farbstest



Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Pipes-Puffer, pH 7.8	50 mmol/l
p-Chlorphenol	2 mmol/l
Lipoproteinlipase	150000 U/l
Glycerolkinase	800 U/l
Glycerin - 3 - P-Oxidase	4000 U/l
Peroxidase	440 U/l
4-Aminoantipyrin	0.7 mmol/l
ATP	0.3 mmol/l
Mg ²⁺	40 mmol/l
Natriumcholat	0.20 mmol/l
Kaliumhexacyanoferrat(II)	1 µmol/l

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.

Ungeöffnet: bis zum aufgedruckten Verfallsdatum bei +2°C bis +8°C

Onboard Stabilität: R1: 90 Tage

Verfärbungen der Reagenzien (Reagenzienleerwert bei 546 nm 1 cm >0,2) weisen auf eine Verunreinigung, Beschädigung oder auf Lagerung bei zu hohen Temperaturen hin.

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen.

Heparin- oder EDTA-Plasma.

Haltbarkeit: bei +2°C bis +8°C 5-7 Tage

bei -20°C 3 Monate

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

Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Metaminizol entnommen 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 ± 10% vom Ausgangswert.

Ikterus: keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 20 (ca. 20 mg/dl Bilirubin)

Hämolyse: keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 400 (ca. 400 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie: der L-Index korreliert mit der Trübung der Probe, nicht jedoch mit den Triglyceridwerten. Extrem lipämische Proben (Triglyceridwerte über 3000 mg/dl) können zu einem normalen Ergebnis führen. Diese Proben sind mit NaCl-Lösung (0,9%) 1+4 zu verdünnen. Das Ergebnis mit 5 multiplizieren.

Falsch niedrige Ergebnisse können bei Patienten auftreten, die Acetaminophen (Paracetamol), N-Acetylcystein (NAC) oder Metamizol (Novaminsulfon, Dipyron) bekommen. 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:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösung wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben

• Natriumchlorid-Lösung (0,9%)

Messbereich:

10 - 2000 mg/dl (0,11 - 22,6 mmol/l)

Proben mit höheren Konzentrationen werden über die Rerun-Funktion mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) bestimmt

Referenzbereich:

Klinische Interpretation nach den Empfehlungen der Europäischen

Atherosklerose-Gesellschaft

Fettstoffwechselstörung

Cholesterin Triglyceride	<200 mg/dl	Nein
Cholesterin	200 - 300 mg/dl	Ja wenn HDL-CHOL < 35 mg/dl
Cholesterin Triglyceride	> 300 mg/dl > 200 mg/dl	Ja

Referenzwerte nach NCEP

Normalbereich: < 200 mg/dl bzw. 2.30 mmol/l

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

Hinweis:

Soll das freie Glycerin berücksichtigt werden, so sind vom ausgedruckten Triglycerid-Wert 10 mg/dl bzw. 0.11 mmol/l abzuziehen. Für Kontrollseren ist die Sollwert-Deklaration des Herstellers zu beachten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

0,3 mg/dl bzw. 0,004 mmol/l

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

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergaben folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Kontrollserum 1	192,92	1,402	0,7
Kontrollserum 2	144,30	1,677	1,2
Kontrollserum 3	182,09	1,664	0,9

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Kontrollserum 1	193,03	8,824	4,6
Kontrollserum 2	147,95	4,729	3,2
Kontrollserum 3	183,99	7,35	4,0

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Fluitest TG (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten:

y = 0,911x + 7,425; r = 0,9992

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum		
Contronorm® Plus	5 x 5 ml	#1205
	20 x 5 ml	#1220
Contropath® Plus	5 x 5 ml	#1305
	20 x 5 ml	#1320
Humanes Lipid Kontrollserum		
Contronorm® L	5 x 2 ml	#1302
Contropath® L	5 x 2 ml	#1303

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 Triglycerid GPO-PAP-Methode wurde an der ID-MS-Methode abgeglichen.

Kalibrations Typ: Linear

S1: 0.9% NaCl

S2: Bio Cal® E 10 x 3 ml #1430

Kalibrationshäufigkeit:

Zweipunktkalibration wird empfohlen

- bei Reagenzchargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

1. Bucolo G. David H. Clin Chem 1973;19:476
2. Eggstein M. Kreuz F. Klein Wschr 1966 44:262-267
3. Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphocal comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem. 1986;32:470-474
4. Greiling H., Gressner A.M. (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995
5. Shephard M.D.S, Whiting M.J. Clin Chem 1990; Vol 36, No 2,325-329. False Low Estimation of Triglycerides in Lipemic Plasma by the Enzymatic Triglyceride Method with Modified Trinder's Chromogen.
6. Siedel J. et al. AACC Meeting Abstract 34. Clin Chem 1993;39:1127
7. Stein E.A., Myers G.L., National Cholesterol Education Program Recommendations for Triglyceridens Measurements: Executive Summaty. Clin Chem 1995; 41:1421-1426
8. Study Group, European Atherosclerosis Society. Strategies for the prevention of coronary heart disease: A policy statement of the European Atherosclerosis Society. European Heart Journal 1987;8:77
9. Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24
10. Wahlefeld A.W.; Bergmeyer H.U. (Hrsg) Methods of Enzymatic Analysis 2nd English ed. New York NY. academic Press Inc. 1974; 1831Trinder P Ann Clin Biochem 1969;6:24