

Order information:

| Catalog No. | Contents | | | | |
|-------------|----------|-----|--------|----|----------------|
| 5052 | R1 | 1 x | 110 ml | R2 | 5 x for 20 ml |
| | R4 | 1 x | 5 ml | | |
| 5010 | R1 | 4 x | 100 ml | R2 | 4 x for 100 ml |
| | R4 | 1 x | 5 ml | | |

Intended use:

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

Summary:

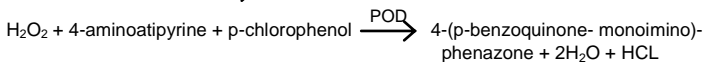
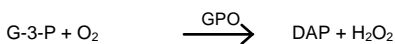
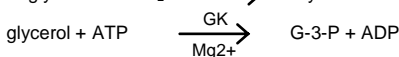
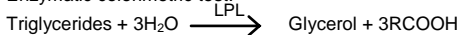
Triglycerides are esters of the trihydric alcohol glycerol with 3 long-chain fatty acids. They are partly synthesized in the liver and partly ingested in food.

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 Kreuz 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 Puffer pH 7.2 | 50 mmol/l |
| p-Chlorophenol | 2 mmol/l |
| R2: | |
| Lipoproteinlipase | 150000 U/l |
| Glycerolkinase | 800 U/l |
| Glycerol-3-P-oxidase | 4000 U/l |
| Peroxidase | 440 U/l |
| 4-Aminoantipyryn | 0.7 mmol/l |
| ATP | 0.3 mmol/l |

R4:
Glycerol equivalent to a concentration of 200 mg/dl (2.28 mmol/l) Triglycerides.

Preparation and stability:

Dissolve contents of enzyme reagent/R2 with the corresponding volume of buffer/R1. The reconstitution time is 2h. Gently mix during that time, avoid foaming. This working solution is stable

| | |
|---------|-------------------|
| 2 weeks | at +20°C to +25°C |
| 8 weeks | at +2°C to 8°C. |

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.

Heparinized or EDTA plasma.

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

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.
Blood samples should only be drawn prior to the administration of Metaminizole.

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 5 (approximately 5 mg/dl bilirubin).

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 500 (approximate hemoglobin concentration: 500 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): 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:

Applications for automated systems are available on request.

Materials provided

• Working solutions as described above

Additional materials required

• Calibrators and controls as indicated below

Manual procedure:

| | |
|------------------|--|
| Wavelength: | 546 nm (500-550 nm) |
| Temperature: | +25°C / +30°C / +37°C |
| Cuvette: | 1 cm light path |
| Zero adjustment: | reagent blank, one reagent blank per series only |

| | Blank | Calib./stand. | Sample |
|-----------------|---------|---------------|---------|
| Calib./Stand | --- | 10 µl | --- |
| Sample | --- | --- | 10 µl |
| Working reagent | 1000 µl | 1000 µl | 1000 µl |

Mix, incubate at +37°C for 5 minutes or 10 minutes at +20 to +25°C.
Read absorbance of sample against reagent blank. Signal stability: 60 min.

Calculation:

by *calib./stand.*

$\frac{\Delta A \text{ sample}}{\Delta A \text{ calib./stand.}} \times \text{calib./stand. conc.} = \text{Triglycerides conc.}$

by *Factor:*

| | | |
|-------------|-----------|------------|
| Wavelength: | c (mg/dl) | C (mmol/l) |
| Hg 546 nm | 1050 x ΔA | 11.97 x ΔA |

Measuring /reportable range:

3 - 1000 mg/dl (0.05 - 11.4 mmol/l)

Dilute samples with higher concentrations with 0.9% NaCl (e.g. 1:4). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 5).

Expected values:

Clinical interpretation according to the recommendations of the European Arteriosclerosis Society.

| Lipid metabolism disorder | | |
|---------------------------|-----------------|----------------------------|
| Cholesterol | <200 mg/dl | no |
| Triglycerides | | |
| 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.

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 reference value declaration of the manufacturer.

Analytical sensitivity (lower detection limit)

Detection limit: 3 mg/dl (0.05 mmol/l)

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

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls. The following results were obtained:

| Within run | | | |
|-------------------|---------------|-------------|---------|
| Sample | Mean mg/dl | SD mg/dl | CV % |
| Control serum 1 | 119 | 1.36 | 1.14 |
| Control serum 2 | 143 | 1.62 | 1.13 |
| Control serum 3 | 198 | 2.50 | 1.26 |

| Between day | | | |
|--------------------|---------------|-------------|---------|
| Sample | Mean mg/dl | SD mg/dl | CV % |
| Control serum 1 | 119 | 1.36 | 1.14 |
| Control serum 2 | 143 | 1.62 | 1.13 |
| Control serum 3 | 198 | 2.50 | 1.26 |

Method comparison:

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

$$y = 0.998 x + 0.504; \quad r = 1.000$$

Quality control:

Human Control Serum

| | | |
|-------------------|-----------|-------|
| Contronorm® Plus | 5 x 5 ml | #1205 |
| | 20 x 5 ml | #1220 |
| Controptath® Plus | 5 x 5 ml | #1305 |
| | 20 x 5 ml | #1320 |
| Contronorm® L | 5 x 2 ml | #1302 |
| Controptath® 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 :

S1: 0.9% NaCl

| | | |
|--------------|-----------|-------|
| S2: Bio Cal® | 20 x 3 ml | #1420 |
| Bio Cal®E | 10 x 3 ml | #1430 |
| Bio Cal®L | 1 x 2 ml | #1401 |
| | 5 x 2 ml | #1402 |

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 Triglycerides 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

Bestellinformation:

| Katalog-Nr. | Inhalt |
|-------------|---------------------------------|
| 5052 | R1 1 x 110 ml R2 5 x für 20 ml |
| | R4 1 x 5 ml |
| 5010 | R1 4 x 100 ml R2 4 x für 100 ml |
| | R4 1 x 5 ml |

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.

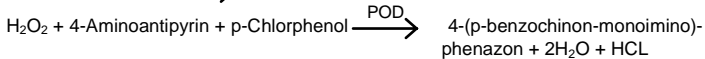
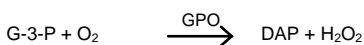
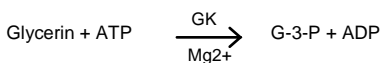
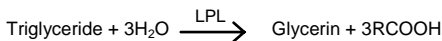
Die Triglyceridbestimmungen dienen zur Diagnose und Behandlung von Patienten mit Diabetes mellitus, Nephrose, Leberobstruktion, Lipidstoffwechselstörungen und zahlreichen endokrinologischen Krankheiten.

Die enzymatische Triglyceridbestimmung, wie von Eggstein und Kreutz 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 7.2 50 mmol/l
p-Chlorphenol 2 mmol/l

R2:
Lipoproteinlipase 150000 U/l
Glycerolkinase 800 U/l
Glycerol-3-P-oxidase 4000 U/l
Peroxidase 440 U/l
4-Aminoantipyrin 0,7 mmol/l
ATP 0,3 mmol/l

R4:
Glycerol entsprechend einer Konzentration von 200mg/dl (2,28mmol/l) Triglyceriden

Herstellung und Haltbarkeit:

Der Inhalt einer Flasche R2 wird mit der entsprechenden Menge R1 gelöst. Die Rekonstitutionszeit beträgt 2h. Während dieser Zeit das Reagenz vorsichtig Mischen, dabei Schaumbildung vermeiden.

Die Gebrauchslösung ist
2 Wochen bei +20°C bis +25°C oder
8 Wochen bei +2°C bis +8°C haltbar.

Untersuchungsgut:

Serum, Heparin- oder EDTA-Plasma.
Haltbarkeit: bei 5 - 7 Tage bis +2°C bis +8°C
bei 3 Monate bis -20°C

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 5 (ca. 5 mg/dl Bilirubin)

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 500 (ca. 500 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 Metaminizol (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:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösung wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterial wie nachfolgend beschrieben

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge: 546 nm (500-550 nm)
Temperatur: +25°C / +30°C / +37°C
Schichtdicke: 1 cm
Messung: pro Messreihe ein Reagenzienleerwert

| | Leerwert | Kalib./Stand. | Probe |
|----------------|----------|---------------|---------|
| Kalib./Stand | --- | 10 µl | --- |
| Probe | --- | --- | 10 µl |
| Arbeitsreagenz | 1000 µl | 1000 µl | 1000 µl |

Mischen und 5 Minuten bei +37°C oder 10 Minuten bei +20°C bis +25°C inkubieren. Extinktionen gegen den Leerwert messen. Signalstabilität: 60 Min.

Berechnung:

Mit Kalib./Stand.

$$\frac{\Delta E \text{ Probe}}{\Delta E \text{ Kalib./Stand.}} \times \text{Kalib./Standardkonz.} = \text{Triglyceridkonz.}$$

Mit Faktor:

Wellenlänge: c (mg/dl) c (mmol/l)
Hg 546 nm 1050 x ΔA 11.97 x ΔA

Messbereich:

3 bis 1000 mg/dl bzw. 0,05 bis 11,4 mmol/l

Proben mit höheren Konzentrationen werden manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt (z. B. 1:4). Ergebnis mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multiplizieren (z. B. Faktor 5).

Referenzbereich:

Klinische Interpretation nach den Empfehlungen der Europäischen Arteriosklerose-Gesellschaft

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

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.

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):

3 mg/dl bzw. 0,05 mmol/l

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

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

| Probe | In der Serie | | |
|-----------------|--------------|-------------|---------|
| | MW mg/dl | SD mg/dl | VK % |
| Kontrollserum 1 | 119 | 1,36 | 1,14 |
| Kontrollserum 2 | 143 | 1,62 | 1,13 |
| Kontrollserum 3 | 198 | 2,50 | 1,26 |

| Probe | Tag / Tag | | |
|-----------------|-------------|-------------|---------|
| | MW mg/dl | SD mg/dl | VK % |
| Kontrollserum 1 | 119 | 1,36 | 1,14 |
| Kontrollserum 2 | 143 | 1,62 | 1,13 |
| Kontrollserum 3 | 198 | 2,50 | 1,26 |

Methodenvergleich:

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

$$y = 0,998 x + 0,504; \quad r = 1.000$$

Qualitätskontrolle:

Humanes Kontrollserum

| | | |
|-------------------|-----------|-------|
| Contronorm® Plus | 5 x 5 ml | #1205 |
| | 20 x 5 ml | #1220 |
| Controptath® Plus | 5 x 5 ml | #1305 |
| | 20 x 5 ml | #1320 |
| Contronorm® L | 5 x 2 ml | #1302 |
| Controptath® 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:

S1: 0.9% NaCl

| | | |
|--------------|-----------|-------|
| S2: Bio Cal® | 20 x 3 ml | #1420 |
| Bio Cal®E | 10 x 3 ml | #1430 |
| Bio Cal®L | 1 x 2 ml | #1401 |
| | 5 x 2 ml | #1402 |

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

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. (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 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. (Hrsg) Methods of Enzymatic Analysis 2nd English ed. New York NY. academic Press Inc. 1974; 1831Trinder P Ann Clin Biochem 1969;6:24