

Order information:

Catalog No.	Contents			
5748	R1	8 x	20 ml	R4 1 x 5 ml
5741	R1	4 x	100 ml	R4 1 x 5 ml
H9001 Hit I (ILab*)	R1	12 x	50 ml	
H9003 Hit 917 (AU*)	R1	12 x	60 ml	
AU9003 AU	R1	12 x	60 ml	

(*) Kit contains only reagent barcodes for Hitachi system

System information:

Hitachi 911: ACN 006
Hitachi 917: ACN 781

For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

Intended use:

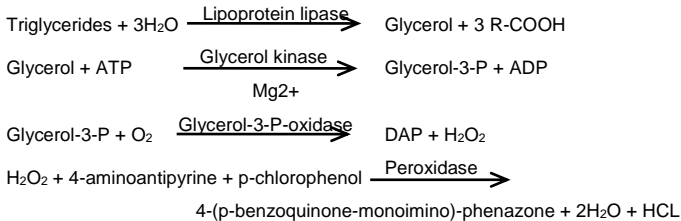
Enzymatic *in vitro* test for the quantitative determination of triglycerides in human serum and plasma.

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
Mg2+	40 mmol/l
Na-cholat	0.20 mmol/l
Potassium-Hexacyanoferrat(II)	1µmol/l

R4: (#5748, #5741)

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

Preparation and stability:

R1: Ready for use.

R4: Ready for use.

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

Onboard stability: R1 14 days (Hitachi)

Stability: 3 weeks at +20°C to +25°C.

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 Metamizole.

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 22 (approximately 22 mg/dl bilirubin).

Hemolysis: No significant interference up to an index H of 625 (approximate hemoglobin concentration: 625 mg/dl).

Lipemia (Intralipid): Index L correlates with sample turbidity but not with triglyceride 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. Roche/Hitachi 911: run the test with decrease a sample volume.

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
- 0.9% NaCl

Manual procedure:

Wavelength:	Hg 546 nm (500-550 nm)	
Temperature:	+37°C	
Cuvette:	1 cm	
Zero adjustment:	Reagent blank/ one reagent blank per series only	

	Blank	Sample/Calib./Stand.
Sample/Calib./Stand.	---	10 µl
R1	1000 µl	1000 µl

Mix and read initial absorbance. Incubate for 5 min at +37°C or for 10 min at +20°C to +25°C. Then read absorbance of sample against reagent blank within 60 min after start.

Calculation:

$$\frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Calib./Stand}} \times \text{Calib./Stand. conc.} = \text{Triglycerides conc.}$$

Measuring /reportable range:

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

Determine samples with higher concentrations via the rerun function. On instruments without rerun function, manually dilute samples with 0.9% NaCl (e.g. 1:4). Multiply the result by the appropriate dilution factor (e.g. 5)

Expected values:

Clinical interpretation as recommended by 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	

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: 3mg/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 human samples the following results were obtained:

within run			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Control serum 1	122	1.09	0.89
Control serum 2	150	1.79	1.19
Control serum 3	206	1.44	0.70

between day			
Sample	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Control serum 1	121	1.96	1.62
Control serum 2	161	1.84	1.14
Control serum 3	204	2.36	1.16

Method comparison:

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

$$y = 1.002x + 1.136; r = 0.999$$

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.

S1: 0.9% NaCl

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

Calibration frequency:

Two point calibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

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

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
5748	R1 8 x 20 ml R4 1 x 5 ml
5741	R1 4 x 100 ml R4 1 x 5 ml
H9001 Hit I	R1 12 x 50 ml
H9003 Hit 917 (AU*)	R1 12 x 60 ml
AU9003 AU	R1 12 x 60 ml

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

Systeminformation:

Hitachi 911: ACN 006
Hitachi 917: ACN 781

Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

Anwendungszweck:

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

Zusammenfassung:

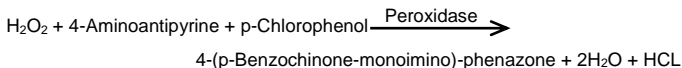
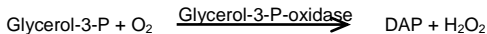
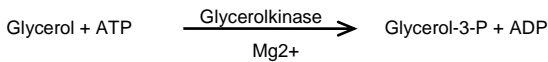
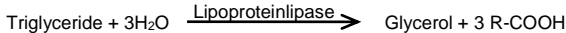
Triglyceride sind Ester des dreiwertigen Alkohols Glycerin mit 3 langkettigen Fettsäuren. Sie werden teilweise durch die Nahrung aufgenommen, teilweise in der Leber synthetisiert.

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
Glycerolkinese	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

R4: (#5748, #5741)

Glycerol entsprechend einer Konzentration von 200 mg/dl (2.28 mmol/l) Triglycerid.

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.

R4: Inhalt ist gebrauchsfertig.

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

Onboard Stabilität (Hitachi): R1: 14 Tage

Haltbarkeit: 3 Wochen bei +20°C bis +25°C

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: 5-7 Tage bei +2°C bis +8°C
3 Monate bei -20°C

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

Blutproben sollten nur vor der Verabreichung von Metamizol 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.

Icterus: keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 22 (ca. 22 mg/dl Bilirubin)

Hämolyse: keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 625 (ca. 625 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 oder, auf Roche/ Hitachi 911, den Test mit einem geringeren Probenvolumen wiederholen.

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:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösung wie vorher angegeben

Zusätzlich benötigte Materialien

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

Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge:	Hg 546 nm (500-550 nm)
Temperatur:	+37°C
Küvette:	1 cm
Messung:	Reagenzienleerwert/ Pro Messreihe ein Reagenzienleerwert

	Leerwert	Probe/ Kalib./Stand.
Probe/ Kalib./Stand.	---	10 µl
R1	1000 µl	1000 µl

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

Calculation:

$$\frac{\Delta A \text{ Probe}}{\Delta A \text{ Kalib./Stand}} \times \text{Kalib./Stand. Konz.} = \text{Triglyceridkonz.}$$

Messbereich:

3 bis 1000 mg/dl bzw. 0.05 bis 11.4 mmol/l

Proben mit höheren Konzentrationen werden über eine Rerun-Funktion bestimmt. Bei Geräten ohne Rerun-Funktion werden Proben mit höheren Konzentrationen 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	> 200 mg/dl	Ja wenn HDL-CHOL < 35 mg/dl
Cholesterin	200 – 300 mg/dl	Ja
Cholesterin	> 300 mg/dl	Ja
Triglyceride	> 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)

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

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

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

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben bestimmt und ergaben folgende Ergebnisse:

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Kontrollserum 1	122	1,09	0,89
Kontrollserum 2	150	1,79	1,19
Kontrollserum 3	206	1,44	0,70

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Kontrollserum 1	121	1,96	1,62
Kontrollserum 2	161	1,84	1,14
Kontrollserum 3	204	2,36	1,16

Methodenvergleich:

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

$$y = 1,002 x + 1,136 ; r = 0,999$$

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

Humanes Lipid Kontrollserum:

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:

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

S1: 0.9% NaCl

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

Kalibrationshäufigkeit:

Zweipunktkalibration wird empfohlen

- bei Reagenzchargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern.

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

Literatur:

- Bucolo G. David H. Clin Chem 1973;19:476
- Eggstein M. Kreutz F. Klein Wschr 1966 44:262-267
- Glick M.R., Ryder K.W., Jackson SA. Graphical comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem. 1986;32:470-474
- Greiling H., Gressner A.M. (Hrsg.). Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie. 3. Auflage. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag, 1995
- 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.
- Siedel J. et al. AACC Meeting Abstract 34. Clin Chem 1993;39:1127
- Stein E.A., Myers G.L., National Cholesterol Education Program Recommendations for Triglyceridens Measurements: Executive Summaty. Clin Chem 1995; 41:1421-1426
- 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
- Trinder P. Ann Clin Biochem 1969;6:24