

REF



SYSTEM

07026684190

07026684500

100

cobas e 801

## Deutsch

### Systeminformation

Kurzname	ACN (Applikationscodes)
ACTH	10075

### Anwendungszweck

Immunologischer In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung von adrenokortikotropem Hormon (ACTH) in humanem EDTA-Plasma.

Der ElektroChemiLumineszenz-ImmunoAssay "ECLIA" ist zur Durchführung an **cobas e 801** Immunoassay-Systemen vorgesehen.

### Zusammenfassung

Adrenokortikotropes Hormon (ACTH) bzw. Kortikotropin ist ein aus 39 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon. Es wird vom Hypophysenvorderlappen als Teil des Vorläufermoleküls Pro-Opiomelanocortin (POMC) gebildet. Als Folge einer gewebespezifischen Spaltung kommt es zur Bildung von ACTH sowie einer Reihe verwandter Peptide.<sup>1,2</sup>

ACTH stimuliert die Bildung und Ausschüttung von Glukokortikoiden (insbesondere Cortisol) durch die Nebennierenrinde.

Die Glukokortikoidbildung wird von unterschiedlichen Faktoren gesteuert.<sup>3,4,5,6</sup> Nach Stimulierung (z.B. durch körperliche Anstrengung oder die körpereigene biologische Uhr) kommt es durch den Hypothalamus zu einer Ausschüttung von CRH (Corticotropin Releasing Hormone). CRH bewirkt in der Hypophyse die Synthese und Sekretion von ACTH. ACTH stimuliert schließlich die Ausschüttung von Glukokortikoiden durch die Nebenniere. Hohe Glukokortikoidkonzentrationen im Blut hemmen die Ausschüttung von CRH und ACTH über ein negatives Feedback-System.

ACTH-Konzentrationen unterliegen einer Tagesschwankung, wobei hohe Spiegel morgens und niedrige Spiegel abends auftreten. Wie auch im Falle von Cortisol ist es für die Interpretation der Ergebnisse wichtig, den Entnahmezzeitpunkt der Plasmaprobe zu kennen.

ACTH-Messungen im Plasma dienen zur Differentialdiagnose des Cushing-Syndroms (erhöhte ACTH-Ausschüttung), von autonomen ACTH-bildenden hypophysären Geweben (z.B. Nelson-Syndrom), Hypopituitarismus mit ACTH-Mangel sowie von ektopischem ACTH-Syndrom.<sup>7,8</sup> Neben Cortisolbestimmungen können auch ACTH-Messungen zusammen mit weiteren Unterdrückungs- und Stimulierungstests zur Diagnose des Ursprungs einer Glukokortikoid-Überproduktion herangezogen werden. ACTH-Messungen können in ähnlicher Weise auch unterstützend bei der Differentialdiagnose einer Nebenniereninsuffizienz (Addison-Krankheit) verwendet werden.<sup>9</sup>

ACTH, welches nicht von der Hypophyse gebildet wird, wird als ektopisches ACTH bezeichnet<sup>10</sup> und meist mit kleinzelligem Lungenkarzinom assoziiert. In seltenen Fällen kann ektopisches ACTH auch durch Tumoren des Thymus, Adenokarzinome der Bauchspeicheldrüse oder durch Bronchialkarzinome hervorgerufen werden. Diese Tumoren führen oftmals zur Ausschüttung von ACTH-Vorläufern (POMC und pro-ACTH).

Der Elecsys ACTH Test verwendet zwei monoklonale Antikörper, die für ACTH (9-12) und die C-terminale Region (ACTH 36-39) spezifisch sind.

Aufgrund der gemeinsamen Antigenstruktur erkennen die Antikörper intaktes, biologisch aktives ACTH 1-39 sowie die ACTH-Vorläufer POMC und pro-ACTH.<sup>2</sup>

### Testprinzip

Sandwichprinzip. Gesamtdauer des Tests: 18 Minuten.

- 1. Inkubation: 30 µL Probe, ein biotinylierter monoklonaler ACTH-spezifischer Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex<sup>a)</sup> markierter monoklonaler ACTH-spezifischer Antikörper bilden einen Sandwich-Komplex.
- 2. Inkubation: Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex über Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden.

- Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt. Dort werden die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf der Oberfläche der Elektrode fixiert. Danach werden die ungebundenen Substanzen mit ProCell II M entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.

- Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über **cobas link** mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert.

a) Tris(2,2'-bipyridyl) Ruthenium(II)-Komplex (Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>)

### Reagenzien – gebrauchsfertige Lösungen

Das **cobas e** pack ist mit ACTH gekennzeichnet.

- M Streptavidin-beschichtete Mikropartikel, 1 Flasche, 5,8 mL; Streptavidin-beschichtete Mikropartikel, 0,72 mg/mL; Konservierungsmittel.
- R1 Anti-ACTH-Ak-Biotin, 1 Flasche, 7,2 mL; Biotinylierter monoklonaler Anti-ACTH-Antikörper (Maus), 0,3 mg/L; MES<sup>b)</sup>-Puffer, 50 mmol/L, pH 6.2; Konservierungsmittel.
- R2 Anti-ACTH-Ak-Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>, 1 Flasche, 7,2 mL; Monoklonaler Anti-ACTH-Antikörper (Maus), markiert mit Ruthenium-Komplex, 0,3 mg/L; MES-Puffer, 50 mmol/L, pH 6.2; Konservierungsmittel.

b) MES = 2-Morpholinoethansulfonsäure

### Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

In-vitro-Diagnostikum.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Die Entsorgung aller Abfälle ist gemäß den lokalen Richtlinien durchzuführen.

Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage für berufsmäßige Benutzer erhältlich.

Schaumbildung bei allen Reagenzien und Probenarten (Proben, Kalibratoren und Kontrollen) vermeiden.

### Reagenz-Handhabung

Die in der Packung befindlichen Reagenzien sind gebrauchsfertig und werden in **cobas e** packs geliefert.

Alle für die korrekte Anwendung benötigten Informationen sind über den **cobas link** abrufbar.

### Lagerung und Haltbarkeit

Aufbewahrung bei 2-8 °C.

Nicht einfrieren.

Das **cobas e** pack **aufrecht stehend** aufbewahren, um eine komplette Verfügbarkeit der Mikropartikel während des automatischen Mischens vor Gebrauch zu gewährleisten.

Haltbarkeit:	
ungeöffnet bei 2-8 °C	bis zum angegebenen Verfallsdatum
im <b>cobas e 801</b> Gerät	16 Wochen

### Probenentnahme und Vorbereitung

Nur die nachfolgend aufgeführten Probenarten wurden getestet und können verwendet werden.

K<sub>2</sub>-EDTA- und K<sub>3</sub>-EDTA-Plasma, entnommen mit Silikonglasröhrchen bzw. Kunststoffröhrchen, da ACTH von Nicht-Silikonglasröhrchen adsorbiert wird und dies zu einer Herabsetzung der ACTH-Werte führt.<sup>2</sup> Andere Arten von Plasmaproben dürfen nicht verwendet werden.

Bewertung für K<sub>2</sub>-EDTA-Plasma: Steigung 0.85-1.15 + Korrelationskoeffizient ≥ 0.95 im Methodenvergleich gegen K<sub>3</sub>-EDTA-Plasma.

**Nur vorgekühlte Probenröhrchen verwenden. Nach der Blutentnahme, die Röhrchen sofort auf Eis kühlen. Zur Abtrennung des Plasmas ist**

## eine gekühlte Zentrifuge zu verwenden. Die Bestimmung der Proben sofort durchführen oder bei -20 °C einfrieren.

Haltbarkeit: 3 Stunden bei 2-8 °C, gefolgt von 2 Stunden bei 20-25 °C, 10 Wochen bei -20 °C (± 5 °C). Nur einmal einfrieren.

Die aufgeführten Probenarten wurden mit einer Auswahl an handelsüblichen Probenentnahmeröhrchen, die zum Zeitpunkt der Überprüfung erhältlich waren, getestet, d. h. nicht alle erhältlichen Röhrchen aller Hersteller wurden getestet. Probenentnahmesysteme verschiedener Hersteller können unterschiedliche Materialien enthalten, welche die Testergebnisse im Einzelfall beeinflussen können. Bei Verwendung von Primärröhrchen (Probenentnahmesysteme) sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor der Durchführung des Tests zentrifugiert werden.

Keine hitzeinaktivierten Proben verwenden.

Keine mit Azid stabilisierten Proben und Kontrollen verwenden.

Es muss sichergestellt werden, dass die Temperatur der Proben und Kalibratoren zur Messung 20-25 °C beträgt.

Auf den Geräten befindliche Proben und Kalibratoren sollten wegen möglicher Verdunstungseffekte innerhalb von 2 Stunden vermessen werden.

### Gelieferte Materialien

Siehe "Reagenzien - gebrauchsfertige Lösungen".

### Zusätzlich benötigte Materialien

- [REF](#) 03255760190, ACTH CalSet, für 4 x 1.0 mL
- [REF](#) 05341787190, PreciControl Multimarker, für 6 x 2.0 mL
- Allgemein übliche Laborausstattung
- **cobas e** 801 Gerät

Zubehör für **cobas e** 801 Geräte:

- [REF](#) 06908799190, ProCell II M, 2 x 2 L Systemlösung
- [REF](#) 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L Messzellen-Reinigungslösung
- [REF](#) 07485409001, Reservoir Cups, 8 Gefäße zur Versorgung von ProCell II M und CleanCell M
- [REF](#) 06908853190, PreClean II M, 2 x 2 L Waschlösung
- [REF](#) 05694302001, Assay Tip/Assay Cup Tray, Stapel mit 6 x 6 Magazinen mit jeweils 105 Pipettenspitzen und 105 Probengefäßen, 3 Abfallbeutel
- [REF](#) 07485425001, Liquid Flow Cleaning Cup, 2 Adaptergefäße zur Versorgung mit ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean für Liquid Flow Cleaning Detection Unit
- [REF](#) 07485433001, PreWash Liquid Flow Cleaning Cup, 1 Adaptergefäß zur Versorgung mit ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean für Liquid Flow Cleaning PreWash Unit
- [REF](#) 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL System-Reinigungslösung

### Testdurchführung

Um eine einwandfreie Funktion des Tests sicherzustellen, sind die gerätespezifischen Anweisungen zu befolgen. Gerätespezifische Testanweisungen sind im entsprechenden Bedienungshandbuch zu finden.

Das Aufmischen der Mikropartikel vor Gebrauch erfolgt automatisch.

Das kühl (bei 2-8 °C) gelagerte **cobas e** pack in den Reagenz Manager einsetzen. Schaumbildung vermeiden. Das Gerät reguliert die Temperatur der Reagenzien und das Öffnen und Schließen des **cobas e** packs selbsttätig.

### Kalibration

Rückführbarkeit: Diese Methode wurde gravimetrisch mit von Roche hergestelltem, synthetischem ACTH standardisiert.

Die vorgegebene Masterkurve wird durch den Einsatz des entsprechenden CalSets an das Gerät angepasst.

**Kalibrationsfrequenz:** Eine Kalibration muss einmal pro Charge mit frischem Reagenz erfolgen (maximal 24 Stunden nachdem das **cobas e** pack auf dem Gerät registriert wurde).

Das Kalibrationsintervall kann verlängert werden, wenn das Labor eine akzeptable Verifizierung der Kalibrierung vorweisen kann.

Erneute Kalibration wird empfohlen:

- nach 12 Wochen bei Einsatz der gleichen Reagenzcharge
- nach 28 Tagen (bei Einsatz des gleichen **cobas e** packs auf dem Gerät)
- bei Bedarf: z. B. Qualitätskontrolle außerhalb des definierten Bereichs

### Qualitätskontrolle

Zur Qualitätskontrolle ist PreciControl Multimarker einzusetzen.

Zusätzlich können andere geeignete Kontrollmaterialien verwendet werden.

Die Kontrollen der verschiedenen Konzentrationsbereiche sind in Einfachbestimmung bei Gebrauch des Tests mindestens 1 x pro 24 Stunden, 1 x pro **cobas e** pack und anlässlich einer Kalibration mitzuführen.

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der definierten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall festlegen, dass Werte außerhalb der festgelegten Grenzen liegen.

Falls erforderlich, ist die Messung der betroffenen Proben zu wiederholen.

Bei der Qualitätskontrolle die entsprechenden Gesetzesvorgaben und Richtlinien beachten.

### Berechnung

Das Gerät berechnet automatisch die Analytkonzentration jeder Probe wahlweise in pg/mL, pmol/L oder ng/L.

$$\begin{aligned} \text{Umrechnungsfaktoren:} \quad & \text{pg/mL} \times 0.2202 = \text{pmol/L} \\ & \text{pmol/L} \times 4.541 = \text{pg/mL} \end{aligned}$$

### Einschränkungen des Verfahrens – Interferenzen

Die Auswirkungen der folgenden endogenen Substanzen und pharmazeutischen Verbindungen auf die Testleistung wurden überprüft. Es wurde kein Einfluss auf die Ergebnisse durch Interferenzen bis zu den aufgeführten Konzentrationen festgestellt.

### Endogene Substanzen

Komponenten	Getestete Konzentration
Bilirubin	≤ 428 µmol/L bzw. ≤ 25 mg/dL
Hämoglobin	≤ 0.248 mmol/L bzw. ≤ 400 mg/dL
Intralipid	≤ 1500 mg/dL
Biotin	≤ 287 nmol/L bzw. ≤ 70 ng/mL
Rheumafaktoren	≤ 400 IU/mL

Bewertungskriterium: Für Konzentrationen von 1.5-20 pg/mL beträgt die Abweichung ± 3 pg/mL. Für Konzentrationen von > 20-2000 pg/mL beträgt die Abweichung ± 15 %.

Bei Patienten unter Therapie mit hohen Biotin-Dosen (> 5 mg/Tag) sollte die Probenentnahme mindestens 8 Stunden nach der letzten Applikation erfolgen.

Kein High-dose Hook-Effekt bei ACTH-Konzentrationen bis 1 x 10<sup>6</sup> pg/mL.

### Pharmazeutische Substanzen

16 häufig verwendete Pharmaka wurden in vitro getestet. Es konnten keine Störungen festgestellt werden.

Unter ACTH 1-24 Medikation werden ACTH-Bestimmungen aufgrund der negativen Störung im Sandwich-Test jedoch nicht empfohlen.

In seltenen Einzelfällen können Störungen durch extrem hohe Titer von Antikörpern gegen Analyt-spezifische Antikörper, Streptavidin sowie Ruthenium auftreten. Diese Einflüsse werden durch ein geeignetes Test-Design minimiert.

Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

### Grenzen und Bereiche

#### Messbereich

1.5-2000 pg/mL bzw. 0.330-440 pmol/L (definiert durch die Nachweisgrenze (LoD) und das Maximum der Masterkurve). Werte unterhalb der Nachweisgrenze werden als < 1.5 pg/mL bzw. < 0.330 pmol/L



Kreuzreaktant	Konzentration des Kreuzreaktanten pg/mL	Vermeintliches ACTH pg/mL	Veränderung der ACTH Konzentration pg/mL	Kreuzreaktivität %
Keine; Referenz	0	55.4	nicht zutreffend	nicht zutreffend
ACTH 22-39	50000	7.58	-47.8	-0.096
	5000	37.5	-17.9	-0.357
	500	52.9	-2.5	-0.491
ACTH 1-13 (alpha-MSH)	50000	29.2	-26.2	-0.052
	5000	51.4	-4.0	-0.080
	500	55.3	-0.1	-0.022

GTIN

Globale Artikelnummer GTIN

Ergänzungen, Streichungen oder Änderungen sind durch eine Markierung am Rand gekennzeichnet.

© 2017, Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim  
www.roche.com

## Literatur

- 1 Cone RD. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nature Neurosci* 2005;8:571-578.
- 2 Talbot JA, Kane JW, White A. Analytical and clinical aspects of adrenocorticotrophin determination. *Ann Clin Biochem* 2003;40:453-471.
- 3 Jacobson L. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:271-292.
- 4 Arlt W, Stewart PM. Adrenal corticosteroid biosynthesis, metabolism, and action. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:293-313.
- 5 Lin L, Achermann JC. The Adrenal. *Horm Res* 2004;62:22-29.
- 6 Engelmann M, Landgraf R, Wotjak CT. The hypothalamic-neurohypophysial system regulates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis under stress: an old concept revisited. *Front Neuroendocrinol* 2004;25:132-149.
- 7 Beauregard C, Dickstein G, Lacroix A. Classic and recent etiologies of Cushing's syndrome: diagnosis and therapy. *Treat Endocrinol* 2002;1:79-94.
- 8 Lindsay JR, Nieman LK. Differential diagnosis and imaging in Cushing's syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2005;34:403-421.
- 9 Napier C, Pearce SHS. Current and emerging therapies for Addison's disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014;21:147-153.
- 10 Oliver RL, Davis JR, White A. Characterization of ACTH related peptides in ectopic Cushing's syndrome. *Pituitary* 2003;6:119-126.
- 11 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

Weitergehende Informationen siehe Bedienungshandbuch des jeweiligen Gerätes, gerätespezifische Applikationsblätter, Produktinformationen und Methodenblätter aller erforderlichen Komponenten (falls im Land verfügbar).

Um die Grenze zwischen dem ganzzahligen Teil und dem gebrochenen Teil einer Zahl anzugeben, wird in diesem Methodenblatt immer ein Punkt als Dezimaltrennzeichen verwendet. Tausendertrennzeichen werden nicht verwendet.

## Symbole

In Erweiterung zur ISO 15223-1 werden von Roche Diagnostics folgende Symbole und Zeichen verwendet (für USA: Definition der verwendeten Symbole, siehe <https://usdiagnostics.roche.com>):

	Inhalt der Packung
	Geräte, auf denen die Reagenzien verwendet werden können
	Reagenz
	Kalibrator
	Volumen nach Rekonstitution oder Mischen