

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammel-SAA Tumormarker 2 am Cobas NSE, CA 72-4, CYFRA 21-1	Dokument: SA-KL-TUMOR2 Version: B Seite: 1/7
--	---	--

Änderungshinweis	<ul style="list-style-type: none"> - geändertes Probenvolumen und –haltbarkeit - geänderte Kalibratoren - Messbereiche
------------------	---

Inhaltsverzeichnis

1. Zweck.....	2
1.1. Analyt.....	2
1.2. Indikation.....	2
2. Prinzip des Analysenverfahrens.....	2
3. Untersuchungsmaterial, Lagerung.....	2
3.1. Probenmaterial.....	2
3.2. Lagerung.....	3
3.3. Ausschlusskriterien.....	3
4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien.....	3
5. Durchführung.....	4
5.1. Probenvorbereitung.....	4
5.2. Kalibrierung.....	4
5.3. Testablauf.....	5
5.4. Berechnung.....	5
6. Interne Qualitätskontrolle.....	5
6.1. Durchführung der Kontrollen.....	5
6.2. Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse.....	5
6.3. Maßnahmen bei Abweichung.....	6
7. Beurteilung und Grenzen des Verfahrens.....	6
7.1. Angabe von Präzision und Richtigkeit.....	6
7.2. Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenzen.....	6
7.3. Angabe von Linearität und Spezifikation.....	6
7.4. Angaben zur Methodvalidierung / -verifizierung.....	6
8. Ergebnisse und Befundbericht.....	6
8.1. Angabe des Ergebnisses (inkl. Einheiten).....	6
8.2. Referenzbereiche.....	7
9. Hinweise und Störungen.....	7
10. Referenzen, Literatur.....	7
11. Anlagen.....	7

	erstellt	geprüft	freigegeben
Datum	22.01.19	23.01.19	24.01.19
Unterschrift			
Name	T. Strauß	E. von Rein	S. Arnoldt
Abteilung		Arzt	QMB

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammel-SAA Tumormarker 2 am Cobas NSE, CA 72-4, CYFRA 21-1	Dokument: SA-KL-TUMOR2 Version: B Seite: 2/7
--	---	--

1. Zweck

1.1. Analyt

Analyt

Neuron-spezifische Enolase (NSE)
CA72 – 4
CYFRA 21 – 1 (Cytokeratin -19 - Fragment)

EDV-Kürzel

NSE
CA72
CYFR

1.2. Indikation

NSE:

- Therapie- und Verlaufskontrolle bei Patienten mit neuroendokrinen Tumoren z.B. Neuroblastom oder kleinzelliges Bronchialkarzinom

CA 72-4:

- Therapie- und Verlaufskontrolle von gastroenterologischen (Magen-) Karzinomen
- Zweitmarker bei muzinösen Ovarialkarzinomen

CYFRA 21-1:

- CYFRA 21-1 ist ein zytoplasmatisches Protein, das in Plattenepithelien exprimiert wird → wird beim Absterben der Zellen frei
- Verdacht auf Bronchialkarzinom
- Differentialdiagnose unklarer Lungenrundherde
- Therapieeffizienzkontrolle und Nachsorge nicht kleinzelliger Bronchialkarzinome
- Verlaufskontrolle des Harnblasenkarzinoms

2. Prinzip des Analysenverfahrens

Elektro – Chemilumineszenz – Immunoassay (ECLIA, Sandwichprinzip)

- Einsatz von spezifischen monoklonalen Antikörpern (siehe auch Methodenblätter)

3. Untersuchungsmaterial, Lagerung

3.1. Probenmaterial

PROBENVOLUMEN

Serum	NSE, CYFRA 21-1	12 µl
	CA 72-4	18 µl

Cyfra21-1 und Ca-72: Li-Heparin und EDTA-Plasma möglich

NSE: Blut innerhalb einer Stunde zentrifugieren

Der Inhalt des Probenröhrchens muss mindestens 200 µl betragen.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammel-SAA Tumormarker 2 am Cobas NSE, CA 72-4, CYFRA 21-1	Dokument: SA-KL-TUMOR2 Version: B Seite: 3/7
--	---	--

3.2. Lagerung

NSE:	- bei 15 – 25°C	2 Tage
	- bei 2 – 8°C	5 Tage
	- einfrieren bei – 70°C	

CA 72-4:	- bei 15 – 25°C	24 Stunden
	- bei 2 – 8°C	7 Tage
	- gefroren bei -20°C (± 5°C) 3 Monate stabil	

CYFRA 21-1:	- bei 15 – 25°C	5 Tage
	- bei 2 – 8°C	14 Tage
	- gefroren bei -20°C (± 5°C) 12 Wochen stabil	

3.3. Ausschlusskriterien

- Proben müssen frei von Fibrin und anderen Partikeln sein
- Keine hitzeinaktivierten oder mit Acid stabilisierte Proben verwenden
- für NSE kein Plasma und keine hämolytischen Proben verwenden

4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien

Geräte:

- Cobas 8000 (PM-KL-010) e-Modul

Hilfsmittel:

- Pipetten bei Bedarf
- Probenracks
- Probencups: - falls sehr wenig Probenmaterial vorhanden
- falls Probenverdünnung notwendig

Materialien:

Reagenzien und Zusatzreagenzien (Fa. Roche)

- NSE – Testkit, CA 72- 4 – Testkit, CYFRA 21-1 – Testkit
→ gebrauchsfertig, ungeöffnet, aufrecht stehend bei 2 – 8°C bis zum angegebenen Datum haltbar, nach dem Öffnen auf dem Gerät 16 Wochen stabil
- ProCell II M – Systemflüssigkeit → gebrauchsfertig, bei 15 – 25°C bis zum angegebenen Datum haltbar, geöffnet auf dem Gerät 5 Tage stabil
- PreClean II M – Waschlg. → gebrauchsfertig, bei 15-25°C bis zum angegebenen Datum haltbar, geöffnet auf dem Gerät 4 Wochen haltbar

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammel-SAA Tumormarker 2 am Cobas NSE, CA 72-4, CYFRA 21-1	Dokument: SA-KL-TUMOR2 Version: B Seite: 4/7
---	---	--

- CleanCell M – Reinigungslsg. → gebrauchsfertig, bei 15 – 25°C bis zum angegebenen Datum haltbar, geöffnet auf dem Gerät 5 Tage stabil
- Diluent Universal – Probenverdünnungsmittel → gebrauchsfertig, bei 2 – 8°C bis zum angegebenen Datum haltbar, geöffnet auf dem Gerät 3 Monate stabil
- Diluent NSE – Probenverdünnungsmittel → gebrauchsfertig, bei 2 – 8°C bis zum angegebenen Datum haltbar, nach dem Öffnen bei 2-8°C 4 Wochen stabil

5. Durchführung

5.1. Probenvorbereitung

- barcodierte Patientenproben ggf. auftauen, auf Raumtemperatur bringen (20 - 25°C) und gut mischen (nicht auf dem Vortexer)

5.2. Kalibrierung

Rückführbarkeit:

- NSE: wurde an der Enzymun-Test NSE Methode standardisiert
- CA 72-4: wurde gegen die Enzymun-Test CA 72-4 Methode standardisiert
- CYFRA 21-1: wurde gegen die Enzymun-Test CYFRA 21-1 Methode standardisiert

kalibriert wird wenn:

- Testreagenzien einer anderen Charge verwendet werden
- Qualitätskontrollen wiederholt außerhalb des zulässigen Bereichs liegen

Kalibration wird empfohlen:

- nach 12 Wochen bei gleicher Reagenzcharge
- nach 28 Tagen bei Einsatz der gleichen Reagenzpackung auf dem Gerät

Kalibrator:

NSE-, CYFRA 21-1 und CA 72-4 CalSet (Fa.Roche) - je zwei testspezifische Kalibratoren

Lagerung der Kalibratoren: bei +2 – 8°C im Kühlschrank

Rekonstitution der Kalibratoren:

- Vorsichtig 1,0 ml Aqua dest. in die Flasche pipettieren und 15 min stehen lassen, anschließend sorgfältig mischen
- portioniert in Schnappverschluß-Leerflaschen umfüllen und bei +2 – 8°C im Kühlschrank lagern

Stabilität nach Rekonstitution:

NSE und CA 72-4 6 Wochen und Cyfra 21-1 8 Wochen bei +2 – 8°C haltbar

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammel-SAA Tumormarker 2 am Cobas NSE, CA 72-4, CYFRA 21-1	Dokument: SA-KL-TUMOR2 Version: B Seite: 5/7
--	---	--

5.3. Testablauf

Diese Tumormarker werden entsprechend dem aktuellen cobas Quartalsplan bestimmt. Reagenz, Kalibratoren, Kontrollen und Probenmaterial müssen Raumtemperatur haben.

Die mit barcodierten Patientenproben bestückten Probenracks werden ins Gerät gestellt. Die Anforderungen werden automatisch nach Barcodeidentifizierung vom Host übermittelt. Die Patientenergebnisse werden ebenso sofort nach Ermittlung zurück zur Labor -EDV gesendet und dann vom Bediener validiert.

Genaueres Vorgehen siehe Prüfmittelanweisung Cobas 8000 (PA-KL-009)

5.4. Berechnung

Eine Berechnung der Ergebnisse ist nicht erforderlich.
Ggf. ist die Verdünnung einer Patientenprobe manuell zu berechnen.

6. Interne Qualitätskontrolle

6.1. Durchführung der Kontrollen

Messung der Kontrollen vor jedem Routinelauf

PreciControl Tumor Marker 1 und 2 (Fa. Roche)

Lagerung:

In der Packung bei +2 – 8°C.

Rekonstitution der Kontrolle:

Kontrolle vorsichtig mit **3 ml Aqua dest.** lösen und **30 min** stehen lassen.

Anschließend sorgfältig mischen.

Die gelöste Kontrolle sofort in Hitachicups umfüllen und portioniert (300µl) bei – 20°C einfrieren.

Lagerung der Kontrolle nach Rekonstitution:

bei – 20°C bis zu 1 Monat stabil

bei 2 – 8°C bis zu 2 Wochen

bei 20 – 25 °C auf dem Gerät: bis zu 24 Stunden

6.2. Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse

Nach Prüfung der ggf. durchgeführten Kalibration und der Qualitätskontrollen werden die Ergebnisse online in die Labor – EDV übertragen und durch den Bediener technisch validiert. Wiederholt gemessene Ergebnisse und optisch auffällige Seren (Hämolyse, Lipämie usw.) werden mit entsprechenden Textbausteinen versehen. Die Datensicherung erfolgt über den Data Manager.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammel-SAA Tumormarker 2 am Cobas NSE, CA 72-4, CYFRA 21-1	Dokument: SA-KL-TUMOR2 Version: B Seite: 6/7
--	---	--

6.3. Maßnahmen bei Abweichung

Ggf. Reagenzien und Kontrollen erneuern, Neukalibration des Testes.
Bei Fortbestehen zu Rate ziehen des Geräteverantwortlichen bzw. der Service-Hotline

7. Beurteilung und Grenzen des Verfahrens

7.1. Angabe von Präzision und Richtigkeit

siehe Packungsbeilagen „Spezifische Leistungsdaten“, FB 66 „Methodenvergleich“ sowie Unterlagen der Qualitätskontrolle

7.2. Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenzen

Messbereiche:	NSE	0,075 – 370 µg/l (ng/ml)
	CA 72-4	1,50 – 250 U/ml
	CYFRA 21-1	0,10 – 500 ng/ml

Messwerte oberhalb des Messbereichs werden wie folgt verdünnt:

- NSE manuell mit Diluent NSE
- CA 72-4 und CYFRA 21-1 mit Diluent Universal
→ empfohlenes Verdünnungsverhältnis 1:2

7.3. Angabe von Linearität und Spezifikation

siehe Packungsbeilagen „Spezifische Leistungsdaten“

7.4. Angaben zur Methodvalidierung / -verifizierung

siehe Packungsbeilagen „Methodenvergleich“, FB 66 „Methodenvergleich“
(in der Anlage) und Unterlagen der Qualitätskontrolle.

8. Ergebnisse und Befundbericht

8.1. Angabe des Ergebnisses (inkl. Einheiten)

NSE	= µg/l
CA 72-4	= U/ml
CYFRA 21-1	= ng/ml

Werte unterhalb des Messbereichs werden wie folgt angegeben:

NSE:	< 0,075 µg/l
CA 72-4:	< 1,50 U/ml
CYFRA 21-1:	< 0,10 ng/ml

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammel-SAA Tumormarker 2 am Cobas NSE, CA 72-4, CYFRA 21-1	Dokument: SA-KL-TUMOR2 Version: B Seite: 7/7
--	---	--

8.2. Referenzbereiche

NSE	< 16,3 µg/l	
CA 72-4	< 6,9 U/ml	
CYFRA 21-1	< 3,3 ng/ml	(Methodenblätter)

9. Hinweise und Störungen

- Die Tumormarker-Werte einer Patientenprobe können in Abhängigkeit vom verwendeten Testverfahren unterschiedlich hoch gemessen werden. Der Laborbefund muss daher immer eine Angabe über die benutzten Bestimmungsmethoden enthalten. Werte, die mit unterschiedlichen Testverfahren ermittelt wurden, können nicht miteinander verglichen werden und Ursache für medizinische Fehlinterpretationen sein.
- NSE ist in Erythrozyten und Thrombozyten enthalten. Daher führen hämolytische Seren zu falsch hohen Ergebnissen
- Plasma sollte wegen einer Freisetzung von NSE aus Thrombozyten nicht verwendet werden
- erhöhte CA72 – 4 Werte können bei Patienten mit benignen Erkrankungen wie schwere Lebererkrankungen oder benignen Ovarialzysten beobachtet werden
- lipämische, ikterische und hämolytische Seren können zu Beeinträchtigungen der Testergebnisse führen
- Jedes massive Trauma von Cytokeratin – reichem Gewebe z.B. während der Operation aber auch durch unfallbedingte Prellungen (Schleudertrauma) bzw. Quetschungen der Lunge können zu vorübergehenden deutlich erhöhten CYFRA 21 – 1 Werten führen
- Bei Patienten unter Therapie mit hohen Biotin-Dosen (> 5 mg/Tag) sollte die Probenentnahme mindestens 8 Stunden nach der letzten Applikation erfolgen.

10. Referenzen, Literatur

Neumeister, Besenthal, Böhm „Klinikleitfaden Labordiagnostik“ 4. Auflage 2009
Hofmann, Aufenanger, Hoffmann „Klinikhandbuch Labordiagnostische Pfade“ 2012
L. Thomas „Labor und Diagnose“ 8. Auflage 2012
- NSE S.: 1677 ff.
- CA 72-4 S.: 1639 ff.
- CYFRA 21-1 S.: 1657 ff.

Gressner, Arndt „Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik“ Band 1 2007
„Leitfaden Tumorerkrankungen“ ABBOTT

11. Anlagen

Packungsbeilagen des Reagenzherstellers
FB 66 „Methodenvergleich“
Sicherheitsdatenblätter