

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 1/12
---	---	---

Änderungshinweis	<ul style="list-style-type: none"> - Probenmaterial und Messbereich für CK-MB geändert - geänderte Kontrollen - Hinweise und Störungen
-------------------------	---

Inhaltsverzeichnis

1. Zweck.....	2
1.1. Analyt.....	2
1.2. Indikation.....	2
2. Prinzip des Analysenverfahrens.....	4
3. Untersuchungsmaterial, Lagerung	4
3.1. Probenmaterial.....	4
3.2. Stabilität, Lagerbedingungen	5
3.3. Ausschlusskriterien	5
4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien	5
5. Durchführung	6
5.1. Kalibrierung.....	6
5.2. Testablauf	8
5.3. Berechnung.....	8
6. Qualitätskontrolle	8
6.1. Durchführung der Qualitätskontrolle.....	8
6.2. Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse.....	9
6.3. Maßnahmen bei Abweichung.....	9
7. Beurteilung und Grenzen des Verfahrens	9
7.1. Angabe von Präzision und Richtigkeit.....	9
7.2. Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenzen	10
7.3. Angabe von Linearität und Spezifikation	10
7.4. Angaben zur Methodenvalidierung	10
8. Ergebnisse und Befundbericht.....	10
8.1. Angabe des Ergebnisses (inkl. Einheiten).....	10
8.2. Referenzbereiche.....	11
9. Hinweise und Störungen	11
10. Referenzen, Literatur	12
11. Anlagen.....	12

	erstellt	geprüft	freigegeben
Datum	30.01.17	31.01.17	01.02.17
Unterschrift			
Name	S. Arnoldt QMB	N. Richter	S. Arnoldt QMB

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 2/12
--	--	---

1. Zweck

1.1. Analyt

<u>Analyt</u>	<u>EDV-Kürzel</u>
1. Angiotensin-Converting Enzyme	ACE
2. Alkalische Phosphatase	AP
3. Cholinesterase	CHE
4. Gamma-GT	GGT
5. GOT / AST	GOT
6. GPT / ALT	GPT
7. Laktatdehydrogenase	LDH
8. α - Amylase	AMYS
9. Creatin Kinase	CPK
10. CKMB	CKMB
11. Glutamat-Dehydrogenase	GLDH
12. Lipase	LIPA

1.2. Indikation

Angiotensin-Converting Enzyme

- Verdacht auf Sarkoidose
- Verlaufs – und Therapiekontrolle bei Sarkoidose
- Differentialdiagnostik bei Tuberkulose, Gaucher-Syndrom, Lepra, Lungen- und Lebererkrankungen

Alkalische Phosphatase (AP)

- Leber- und Gallenwegserkrankungen (Leber-AP)
- Knochenerkrankungen (Knochen-AP) mit erhöhter Osteoblastenaktivität, z.B. Osteomalazie, M. Paget, primärer und sekundärer Hyperparathyreoidismus, Knochentumoren, -metastasen
- Isoenzymdifferenzierung bei klinisch nicht eindeutigen Zuständen und V.a. mehrere Ursachen für AP-Erhöhungen (Knochen-AP und Leber-AP)

Cholinesterase (CHE)

- Lebererkrankungen mit eingeschränkter Synthesefunktion
- Intoxikationen mit Insektiziden (Organophosphaten)
- Vor Gabe von Muskelrelaxantien, wenn anamnetisch der Hinweis auf einen Leberschaden besteht.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 3/12
--	--	---

Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT)

- Verdacht auf Erkrankungen der Leber und Gallenwege (sensitivster Parameter)
- Differentialdiagnose der Lebererkrankungen und deren Verlaufsbeurteilung.

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT oder Aspartataminotransferase =ASAT)

Diagnostik, Differenzierung und Verlaufsbeurteilung:

- von Erkrankungen der Leber und Gallenwege,
- bei akutem Herzinfarkt (ergänzende Diagnostik)
- von Skelettmuskelerkrankungen
- bei internistischer und pädiatrischer Erstuntersuchung

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT oder Alaninaminotransferase = ALAT)

- Leber- und Gallenwegserkrankungen

Laktatdehydrogenase (LDH)

- Verdacht auf mehrere Tage zurückliegenden Herzinfarkt (LDH), Verlaufsbeurteilung
- Verdacht auf hämolytische Anämie.
- Verdacht auf Lungenembolie, Skelettmuskelerkrankungen, Malignome (untergeordnete Bedeutung)

α -Amylase

- Akute und chronische Pankreatitis
- Pankreasbeteiligung bei abdominalen Erkrankungen
- Parotitis (epidemica, marantisch, alkoholinduziert)

Kreatinkinase (CK, CPK) / CK-MB

- Herzmuskelerkrankungen: KHK, Myokardinfarkt, Myokarditis, Endokarditis, Perikarditis, operative Eingriffe am Myokard
- Skelettmuskelerkrankungen: progressive Muskeldystrophie, Poly-/Dermato-Myositis, Rhabdomyolyse (Crush-Syndrom), Polytrauma, Alkoholintoxikation

Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

- Beurteilung von Schwere (Nekrose) und Ausmaß einer akuten Leberparenchym - schädigung
- Differentialdiagnose der Lebererkrankungen

Lipase

- Akute und chronische Pankreatitis, Pankreastumoren
- Pankreasbeteiligung bei abdominalen Erkrankungen

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 4/12
--	--	---

2. Prinzip des Analysenverfahrens

Siehe dazu auch Packungsbeilagen der Reagenzien-Hersteller!

ACE	enzymatischer Farbttest
AP	Enzymaktivitätsmessung kinetisch im Farbttest (basierend auf den Empfehlungen der IFCC nach Schumann)
CHE	Enzymaktivitätsmessung im Farbttest
GGT	enzymatischer Farbttest (basierend auf den Empfehlungen der IFCC)
GOT	Enzymaktivitätsbestimmung kinetisch im UV-Test (basierend auf den Empfehlungen der IFCC)
GPT	Enzymaktivitätsbestimmung kinetisch im UV-Test (basierend auf den Empfehlungen der IFCC)
LDH	Enzymaktivitätsbestimmung kinetisch im UV-Test (basierend auf den Empfehlungen der IFCC)
α-Amylase	Enzymaktivitätsmessung kinetisch im kolorimetrischen Test mit Ethyliden-G7PNP als Substrat (basierend auf den Empfehlungen der IFCC)
CK	Enzymaktivitätsbestimmung kinetisch im UV-Test (basierend auf den Empfehlungen der IFCC)
CK-MB	immunologischer UV-Test
GLDH	Enzymaktivitätsbestimmung kinetisch im UV-Test (optimierte Standardmethode auf den Empfehlungen der DGKC)
Lipase	enzymatischer Farbttest

3. Untersuchungsmaterial, Lagerung

3.1. Probenmaterial

ACE:	Serum
AP:	Serum, Heparinplasma
CHE:	Serum, Heparinplasma
GGT:	Serum, Heparinplasma, EDTA-Plasma

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 5/12
--	--	---

GOT:	Serum, Heparinplasma, EDTA-Plasma
GPT:	Serum, Heparinplasma, EDTA-Plasma
LDH:	Serum, Heparinplasma
AMYL:	Serum, Heparinplasma, Urin
CK:	Serum
CKMB:	Serum, EDTA-Plasma
GLDH:	Serum, Heparinplasma, EDTA-Plasma
LIPA:	Serum, Heparinplasma

Mindestprobenmenge: 100 µl

3.2. Stabilität, Lagerbedingungen

ACE:	30	Tage bei 2-8 °C
AP:	7	Tage bei 2-8 °C
CHE:	1	Jahr bei 2-8 °C
GGT:	7	Tage bei 2-8 °C
GOT:	7	Tage bei 2-8 °C
GPT:	7	Tage bei 2-8 °C
LDH:	4	Tage bei 2-8 °C
AMYL:	30	Tage bei 2-8 °C
CK:	7	Tage bei 2-8 °C
CKMB:	8	Tage bei 2-8 °C
GLDH:	7	Tage bei 2-8 °C
LIPA:	7	Tage bei 2-8 °C

für eine längere Aufbewahrung Material bei unter –20 °C einfrieren
Probenlagerung nach der Analyse: 2 Wochen in der Kühlzelle

3.3. Ausschlusskriterien

- ACE** kein EDTA als Antikoagulanzen verwenden
- Amylase** kein EDTA, Citrat, Fluorid und Oxalat als Antikoagulanzen verwenden
- CK** es wird empfohlen, kein Plasma zu verwenden
- CKMB** es wird empfohlen, kein Li-Heparin-Plasma zu verwenden

4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien

Geräte:

- Cobas 8000 (Roche)
- Tischzentrifuge bei Bedarf

<p>Medizinisches Zentrallabor Altenburg</p>	<p>Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000</p>	<p>Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 6/12</p>
---	---	--

Hilfsmittel:

- Pipetten bei Bedarf (für Verdünnungen)
- Probenracks
- Probencups: - falls sehr wenig Probenmaterial vorhanden
- falls Probenverdünnung notwendig
- Aqua dest bzw. entionisiertes Wasser

Materialien:

Reagenzien:

Lagerung im Kühlschrank bei 2-8 °C.
Haltbarkeit ist der jeweiligen Packung zu entnehmen.

Fa. Roche:

- Reagenzien sind gebrauchsfertig
- durch Barcode-Identifizierung am Gerät wird die Stabilitätsdauer verwaltet

GOT, GPT

- die Flasche Pyridoxal-Phosphat und die Flasche R1- Reagenz mit Adapter verbinden und Reagenzien vorsichtig mischen
- Die Mischung in Position B der Kassette einfüllen

GLDH

- R1: Flasche R1 mit dem Adapter verbinden und mit Puffer 1a auflösen,
- R2: gebrauchsfertig

Diluent NACL 9% → Verdünnungsreagenz- gebrauchsfertig, bei 2-8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar, auf dem Gerät 4 Wochen stabil

SI2 > NACL 9% → zur Bestimmung der Serumindices , gebrauchsfertig, bei 2-8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar, auf dem Gerät 4 Wochen stabil

Fa. Bühlmann: ACE-Reagenz

- gebrauchsfertig, bei 2-8 °C lichtgeschützt bis zum angegebenen Datum haltbar

Bei Fremdreagenzien wird eine fest definierte Position auf dem Gerät vergeben.

5. Durchführung

5.1. Kalibrierung

kalibriert wird:

- wenn Qualitätskontrollen wiederholt außerhalb des zulässigen Bereich liegen
- bei Reagenz-Chargenwechsel

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 7/12
--	--	---

Kalibratoren:

1. Roche Calibrator for automated systems (C.f.a.s.)

Lagerung: bei +2 – 8°C

Rekonstitution:

Lyophilisierten Kalibrator mit 3,0 ml Aqua dest. lösen, anschließend 30 min. lichtgeschützt aufbewahren. Während dieser Zeit mehrfach vorsichtig umschwenken.

Haltbarkeit nach Rekonstitution:

8 Stunden bei +15 – 25°C

2 Tage bei +2 – 8°C

4 Wochen bei - 20°C

2. Roche C.f.a.s. CK-MB Calibrator

Lagerung: bei +2 – 8°C

Rekonstitution:

Lyophilisierten Kalibrator mit 1,0 ml Aqua dest. lösen, anschließend 30 min. stehen lassen. Während dieser Zeit mehrfach vorsichtig umschwenken. Weiter 60 min stehen lassen.

Haltbarkeit nach Rekonstitution:

24 Stunden bei +15 – 25°C

2 Tage bei +2 – 8°C

4 Wochen bei - 20°C

3. Bühlmann ACE Kalibrator

Lagerung: bei +2 – 8°C

Rekonstitution:

ACE Kalibrator lyophilisiert mit 2 ml Aqua dest lösen, 15 min stehen lassen, danach mehrmals schwenken bis alles vollständig gelöst ist

Haltbarkeit nach Rekonstitution:

6 Monate bei +2 – 8°C

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 8/12
--	--	---

5.2. Testablauf

Primär-Röhrchen kommen von der Probenverteilung bereits in Probenracks zum Gerät:

- Vorziehen der Notfall-Proben, die durch roten und gelben Barcode markiert sind
- Optische Kontrolle der Füllmenge
- Optische Kontrolle der Barcode-Ausrichtung auf dem Röhrchen
- **CHE, CK-MB, Lithium und GLDH werden nur am Cobas 1**
- **die ACE – Messung erfolgt einmal pro Woche (Freitag) am Cobas 1**
- die Kontrolle der Serumbeschaffenheit erfolgt über die Probenanforderung „SI“ automatisch vom Gerät

Die Probenracks werden auf das für die Probenzufuhr vorgesehene Transportband gestellt und über das Start-Zeichen des Bedienermenüs dem Gerät zugeführt. Durch die Online-Anbindung bekommt der Analyzer nach dem Lesen des Proben-Barcodes die Testanforderungen vom Host übermittelt. Die Ergebnisse werden automatisch zur Labor – EDV übermittelt und dort vom Bediener validiert.

genauerer Vorgehen siehe Kurzanleitung cobas 8000

5.3. Berechnung

Die Ergebnisse werden automatisch zur Labor-EDV gesendet.

Manuell verdünnte Proben müssen berechnet und in die Labor – EDV eingegeben werden.

6. Qualitätskontrolle

6.1. Durchführung der Qualitätskontrolle

- Mitführen der Kontrollen täglich vor und während der Routine (siehe FB 18 Anlage zur PA-KL-009 „Übersicht der durchzuführenden Kontrollen am Cobas“)

- **Liquid Assayed Multiquel Level 1 + 2 (BioRad)**

Lagerung:

Im Tiefkühlschrank bei -20 – -70°C

Lagerung nach dem Auftauen:

bei +2 – 8°C ungeöffnet **30 Tage** und geöffnet **14 Tage** stabil

Ausnahmen: - Cholinesterase 7 Tage

Das eingefrorene Kontrollmaterial ca. 1 Stunde bei Raumtemperatur bis zum vollständigen Auftauen stehen lassen. Anschließend gründlich mischen.

Kontrolle vor Gebrauch immer auf Raumtemperatur bringen!

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 9/12
--	--	---

- **CK-MB und GLDH: Precicontrol ClinChem Multi 1 und 2** der Fa. Roche

Lagerung:

In der Kühlzelle bei +2 – 8°C.

Rekonstitution der Kontrolle:

Vorsichtig mit **5 ml aqua dest.** lösen, 30 min. inkubieren, dabei gelegentlich umschwenken, danach ca. 10 min. auf den Rollenmischer legen, 300 µl in Hitachicups abpipettieren und bei -20°C einfrieren

Haltbarkeit nach Rekonstitution

12 Stunden bei 15 - 25°C

5 Tage bei 2-8°C

28 Tage bei -20°C

- **ACE Kontrolle 1 und 2 (Bühlmann)**

Lagerung:

In der Kühlzelle bei +2 – 8°C.

Rekonstitution:

ACE Kontrollen lyophilisiert mit 2 ml Aqua dest lösen, 15 min stehen lassen, danach mehrmals schwenken bis alles vollständig gelöst ist

Haltbarkeit nach Rekonstitution:

6 Monate bei +2 – 8°C

6.2. Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse

Nach Prüfung einer eventuell durchgeführten Kalibration und der Qualitätskontrollen werden die Ergebnisse mittels technischer Validation durch den Bediener freigegeben. Bei optisch auffälligen Seren (z.B. Lipämie, Hämolyse, Ikterie) werden die Ergebnisse automatisch während der Validation mit Textbausteinen versehen. Bei wiederholt gemessenen Ergebnissen erfolgt die Eingaben von Textbausteinen manuell.

6.3. Maßnahmen bei Abweichung

Reagenzien erneuern, Neukalibration des Testes, Kontrollen neu auflösen und messen. 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 Methodenblätter der Fa. Roche Pkt. „Grenzen und Bereiche“, Packungsbeilagen der Reagenzhersteller sowie Unterlagen der Qualitätskontrolle.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 10/12
--	--	--

7.2. Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenzen

Untere Nachweisgrenzen entsprechen den unteren Linearitätsgrenzen, Bestimmungsgrenzen nach oben entfallen durch die Möglichkeit der Probenverdünnung.

7.3. Angabe von Linearität und Spezifikation

<u>Analyt</u>	<u>Linearitätsbereich</u>	
AP	0.084 – 20.0	µmol/s · l
CHE	1.67 – 234	µmol/s · l
GGT	0.05 – 20.0	µmol/s · l
GOT	0.08 – 11.7	µmol/s · l
GPT	0.08 – 11.7	µmol/s · l
LDH	0.17 – 16.7	µmol/s · l
AMYL	0.05 – 25.0	µmol/s · l
CK	0.117 – 33.4	µmol/s · l
CK-MB	0.05 – 33.4	µmol/s · l
LIPA	0.05 – 5.01	µmol/s · l
GLDH	16.7 – 1340	nmol/s · l
ACE	12 – 150	U/l

7.4. Angaben zur Methodvalidierung

siehe FB 66 „Methodenvergleiche“, Packungsbeilagen der Reagenzhersteller und Unterlagen der Qualitätskontrolle

8. Ergebnisse und Befundbericht

8.1. Angabe des Ergebnisses (inkl. Einheiten)

AP, CHE, GGT, GOT, GPT, LDH, AMYL, CK-MB, LIPA	→	µmol/s · l
GLDH	→	nmol/s · l
ACE	→	U/l

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 11/12
--	--	--

8.2. Referenzbereiche

AP	weiblich	0.60 – 1.75	µmol/s · l	
	männlich	0.65 – 2.20	µmol/s · l	
CHE		89.0 – 215	µmol/s · l	
GGT	weiblich	< 0.65	µmol/s · l	
	männlich	< 1.00	µmol/s · l	
GOT	weiblich	< 0,60	µmol/s · l	
	männlich	< 0.85	µmol/s · l	
GPT	weiblich	< 0.60	µmol/s · l	
	männlich	< 0.85	µmol/s · l	
LDH		< 4.2	µmol/s · l	
AMYL	Serum/Plasma	< 1,85	µmol/s · l	
AMYPH	Urin: weiblich	0.35 – 7.46	µmol/s · l	
	männlich	0.27 – 8.20	µmol/s · l	
CK	weiblich	0.43 – 3.21	µmol/s · l	
	männlich	0.65 – 5.14	µmol/s · l	
CKMB		< 0.42	µmol/s · l	
GLDH	weiblich	< 80	nmol/s · l	
	männlich	< 120	nmol/s · l	
LIPA		0.22 – 1.00	µmol/s · l	
ACE		20 – 70	U/l	(siehe Packungsbeilagen)

→ altersabhängige Normbereiche: siehe Labor - EDV

9. Hinweise und Störungen

- Es ist zum Auflösen der Kalibratoren und Kontrollen nur destilliertes Wasser (kein entionisiertes Wasser aus der Leitung) zu verwenden
- Ggf. sind spezielle Waschprogrammierungen erforderlich und über Cobas-Link erhältlich, eine manuelle Eingabe ist nicht erforderlich
- eine Gammopathie (monoklonales IgM) kann in wenigen Fällen zu unzuverlässigen Ergebnissen führen

CHE

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Enzyme am Cobas 8000	Dokument: SA-KL-ENZY Version: J Seite: 12/12
--	--	--

- Methode eignet sich nicht zur Bestimmung der CHE in Erythrozyten

GLDH

- der bei der GLDH-Bestimmung entstehende Ammoniak stört die Harnstoff-Bestimmung, deshalb darf das GLDH-Reagenz nicht zusammen mit Harnstoff- oder Ammoniak-Reagenz auf dem Gerät eingesetzt werden
- vor der Pipettierung der GLDH erfolgt ein zusätzlicher Waschschrift

GPT

- Stark lipämische Proben verdünnen und nochmals messen
- verfälschte Werte bei hämolytischem Serum, da in den Erythrozyten eine höhere GPT-Konzentration als im Serum vorliegt

GOT

- Stark lipämische Proben verdünnen und nochmals messen
- verfälschte Werte bei hämolytischem Serum, da in den Erythrozyten eine 15-fach höhere GOT-Konzentration als im Serum vorliegt

LDH

- falsch hohe Werte durch Hämolyse, da Erythrozyten mehr als das 150-fache der Serum-LDH-Aktivität aufweisen
- die Isoenzyme LDH4 und LDH5 sind kälteempfindlich → [Auf keinen Fall sollten die Proben eingefroren werden.](#)

CK / CK-MB

- Hydroxocobalamin in therapeutischen Dosen beeinträchtigt das CK- und CK-MB-Ergebnis
- bei einer Gesamt-CK > 66,0 µmol/s · l muss auch die CK-MB verdünnt werden, da sonst die vollständige Hemmung der CK-M-Untereinheit nicht mehr gewährleistet werden kann
- falsch hohe CK-MB-Werte bei Auftreten von Makro-CK Typ 1 und 2

10. Referenzen, Literatur

- L. Thomas „Labor und Diagnose“ 8. Auflage 2012 „Enzyme“ ab S.: 29 – 130
 Gressner, Arndt „Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik“ Band 1 2007
 Klinikleitfaden Labordiagnostik, B. Neumeister et al., Gustav Fischer Verlag, 1.Aufl. 1998

11. Anlagen

Methodenblätter der Fa. Roche und Vergleichsmessungen in separatem Ordner
 Packungsbeilagen der Reagenzhersteller
 Produktinformationen