

992-71185
0724D3

Zweckbestimmung

Hyaluronic acid LT ist ein *in-vitro*-Test zur quantitativen Bestimmung von Hyaluronsäure (HA) in Serum und Plasma.

Zusammenfassung und Eigenschaften des Tests

Hyaluronsäure ist ein unverzweigtes Glykosaminoglykan. Es ist eine einzelne Polymerkette aus Disaccharideinheiten welche N-Acetylhexosamin und Hexose enthalten.¹ Hyaluronsäure ist einer der Hauptbestandteile des Bindegewebes und wird hauptsächlich in den mesenchymalen Zellen produziert.² Hyaluronsäure hat mehrere Funktionen, z.B. als Gelenkschmiere, Schutz vor dem Eindringen von Bakterien und vor Flüssigkeitsverlust im Körper. Hyaluronsäure ist heute der beste Marker für die serielle Erfassung der Leberzirrhose. Die Serumkonzentration von HA entspricht dem Stadium der Fibrose. Als Reaktion auf Interferontherapien bei Patienten mit chronischer HCV-Infektion nimmt die Konzentration ab.^{3,4} Hyaluronic acid LT ist ein Test-Kit zur quantitativen Bestimmung von Hyaluronsäure und basiert auf einer Latex-Agglutinations-Methode, die sich an allen gängigen klinisch-chemischen Analysengeräten anwenden lässt.

Testprinzip

Eine Probe wird mit einem Hyaluronsäure-bindenden Protein (HABP) vermischt. Die Hyaluronsäure in der Probe bindet spezifisch an das HABP. Zur Bildung eines unlöslichen Komplexes werden Latexpartikel, die mit Anti-HABP-Antikörpern beschichtet sind, hinzugefügt. Die Latexpartikel binden an diesen Komplex. Als Ergebnis bewirkt der unlösliche Niederschlag eine Trübung der Lösung. Das Ausmaß der Trübung kann optisch gemessen werden und ist proportional zur Hyaluronsäurekonzentration in der Probe.

Reagenzien

Inhalt und Lagerbedingungen

R1:	HABP Reagenz	Lagerung bei 2–10 °C (nicht einfrieren)
R2:	HA Latex Reagenz	Lagerung bei 2–10 °C (nicht einfrieren)

Inhalt

R1:	Rekombinantes Hyaluronsäure-bindendes Protein (rHABP)	
HABP Reagenz	Rinder-Serum-Albumin	0,1 %
	Natriumazid	0,09 %
R2:	Mit Anti-HABP-Antikörpern sensibilisiertes Latex (Maus, monoklonal)	
HA Latex Reagenz	Borsäure	0,31 %
	Rinder-Serum-Albumin	0,5 %
	Natriumazid	0,09 %

Reagenzvorbereitung

R1: Gebrauchsfertig. Bei 2–10 °C ist das angebrochene Reagenz 1 Monat stabil.
R2: Gebrauchsfertig. Bei 2–10 °C ist das angebrochene Reagenz 1 Monat stabil.

Probengewinnung und -vorbereitung

Verwenden Sie Serum- oder Plasmaproben. Analysieren Sie die Proben unmittelbar nach der Entnahme. Die HA-Stabilität ist nachfolgend beschrieben. Alle Ergebnisse stammen aus hausinternen Auswertungen. Die HA-Stabilität der Probe kann aufgrund der Probeneigenschaften abweichen. Es wird empfohlen, die Proben gemäß den regionalen und nationalen Bestimmungen zu entnehmen. Da alle Proben als potentiell infektiös gelten, sollte ihre Handhabung gemäß den regionalen oder nationalen Bestimmungen für infektiöses Material erfolgen.

Lagertemperatur	HA-Stabilität der Probe
-80 °C	Bis zu 26 Monate stabil
-30 °C	Bis zu 26 Monate stabil
7 °C	Nach 60 Tagen Abnahme von circa 7 %
26 °C	Nach 14 Tagen Abnahme von circa 11 %

Physikalische oder chemische Anzeichen von Instabilität

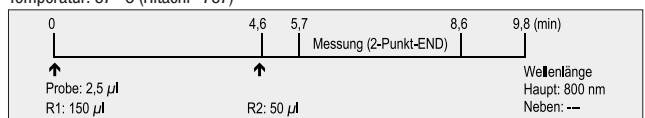
Das Auftreten von Niederschlägen im Reagenz oder Kontrollwerte außerhalb des vom Hersteller angegebenen Toleranzbereichs können Anzeichen für eine Reagenzinstabilität sein.

Instrumente

Das Reagenz ist zur Verwendung auf kommerziell erhältlichen Analysenautomaten vorgesehen. Bezüglich einer Beschreibung der Gerätebedienung und -spezifikation verweisen wir auf das Handbuch des Geräteherstellers. Eine praktische Validierung des Verfahrens vom Anwender am Einsatzort durch Bestimmung einer ausreichenden Anzahl adäquater Kontroll- und Patientenserien ist unerlässlich.

Standard-Verfahren

Temperatur: 37 °C (Hitachi® 737)



Kalibrator: Wako HA Calibrator Set (separat lieferbar)

Anwendung auf verschiedenen Analysenautomaten

Geben Sie die Parameter entsprechend der Bedienungsanleitung des Geräteherstellers ein. Applikationen für Analysenautomaten versenden wir auf Anfrage.

Kalibration

Die Kalibrationskurve wird automatisch vom Gerät erstellt, indem die Absorption (Trübung) gegen die Konzentration abgebildet wird. Für den Reagenzleerwert bitte physiologische Kochsalzlösung verwenden! Einzelheiten zur Kalibration entnehmen sie bitte dem Benutzerhandbuch. Für weitere Details zur Kalibrierung wenden Sie sich an den Gerätehersteller.

Ergebnisse

Die Ergebniskonzentrationen werden automatisch berechnet und ausgedruckt. Die Maßeinheit für die Konzentration ist ng/ml.

Referenzbereiche¹⁰

Die erwarteten Werte liegen bei 23 ± 17 ng/ml.

Grenzen des Verfahrens

- Wenn ein nichtspezifischer Reaktant (z.B. heterophiler Antikörper) in der Probe auftritt, kann kein genaues Messergebnis erzielt werden. Die Ergebnisse sollten im Zusammenhang mit der Symptomatik und der diagnostischen Beurteilung des behandelnden Arztes stehen.
- Die Linearität von Hyaluronic acid LT liegt bei 1.000 ng/ml. Wenn der HA-Wert die obere Messbereichsgrenze überschreitet, verdünnen Sie die Probe mit physiologischer Kochsalzlösung, wiederholen Sie den Test und multiplizieren Sie das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor. Liegt die Hyaluronsäurekonzentration in der Probe bei 1.000–50.000 ng/ml, liegen die gemessenen Werte nicht unter 1.000 ng/ml.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für *in vitro*-Bestimmungen.
- Die Anwendung dieses Tests ist ausschließlich ausgebildetem Fachpersonal vorbehalten. Es gelten die einschlägigen nationalen und regionalen Bestimmungen und Gesetze.
- Darf beim Menschen oder Tier nicht *in vivo* angewendet werden.
- Reagenzien mit unterschiedlichen Chargennummern nicht mischen.
- Lagerung der Reagenzien unter den angegebenen Bedingungen. Reagenzien nach dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht für einen anderen als den angegebenen Verwendungszweck einsetzen.
- Die Reagenzien sind ausschließlich für das hier beschriebene Verfahren zu verwenden. Eine Leistung kann nicht garantiert werden, wenn die Reagenzien für andere Verfahren oder zu anderen Zwecken verwendet werden.
- Bei der Gerätebedienung bitte das Benutzerhandbuch des Herstellers beachten! Wenden Sie sich bitte in Detailfragen an den Gerätehersteller.
- Irrtümlich eingefrorene Reagenzien nicht mehr verwenden.
- Längere Aufbewahrung der angebrochenen Reagenzien wird nicht empfohlen. Nach dem Anbruch bitte wieder gut verschließen und bei der angegebenen Temperatur lagern.
- Die Behälter und andere Materialien der Packung nur für den beschriebenen Testzweck verwenden.
- Das HA Latex Reagenz vor dem Gebrauch durch langsames Überkopfschwenken der Flasche homogenisieren.
- Das Kalibratormaterial ist separat erhältlich. Vor der Anwendung bitte die Gebrauchsanweisung beachten.
- In manchen Fällen treten aufgrund einer unspezifischen Trübung zu hohe oder zu niedrige Werte auf. Wenn ein Ergebnis fragwürdig ist, überprüfen Sie den Reaktionsverlauf oder verdünnen Sie die Probe und wiederholen Sie den Test.
- Nahrungsaufnahme führt zu einer erhöhten Hyaluronsäurekonzentration in Serum oder Plasma. Verwenden Sie Nüchternblut zur Serum- oder Plasmagewinnung.¹¹
- Die Reagenzien nicht an Mund, Augen, oder Haut bringen! Bei Kontakt mit der Haut oder den Augen umgehend mit viel Wasser spülen. Gegebenfalls einen Arzt aufsuchen.
- Alle Materialien und Geräte, die mit Probe in Berührung kommen, bitte mit den gleichen Vorsichtsmaßnahmen behandelt wie Patientenproben, um eine Infektion zu vermeiden.
- Alle mit den Proben in Berührung gekommenen Gegenstände einschließlich der Reagenzien und Reagenzflaschen sind als potentiell infektiös zu betrachten.
- R1 und R2 enthalten 0,09 % Natriumazid als Stabilisator. Natriumazid kann mit Kupfer- oder Bleileitungen explosive Verbindungen bilden. Auch wenn die Reagenzien nur minimale Mengen an Natriumazid enthalten, sollten die Abflüsse ausgiebig mit Wasser gespült werden nachdem die Reagenzien entsorgt wurden.
- Das Reagenz enthält 3090 mg/l Borsäure (540 mg/l als Bor).
- Tragen Sie Laborschutzausrüstung bei der Entsorgung von Abfallflüssigkeit, Probengefäßen und Probenring zur Vermeidung von Infektionen.
- Bei der Entsorgung der Reagenzien sind die regionalen und nationalen Vorschriften zu beachten.

Kennzeichnung gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008

- Das Produkt ist gemäß CLP-Verordnung eingestuft und gekennzeichnet.
- Das Produkt (R2) enthält SVHC nach Reach Artikel 57 >0,1%: Borsäure

Gefahrbestimmende Komponenten zur Etikettierung (R1)

- Natriumthiocyanat

Gefahrenpiktogramme



Gefahrenhinweise

- Verursacht schwere Augenreizung.

Sicherheitshinweise

- Nach Gebrauch gründlich waschen.

Hersteller:

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstr. 12 · 41468 Neuss · Germany
Telephone: +49 2131 311 272 · Fax: +49 2131 311 100
diagnostics_wkeu@fujifilm.com · www.wako-chemicals.de

Wako



992-71185
0724D3

- Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.
- BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.

Interferenzen

- a) Ascorbinsäure, Bilirubin und Hämolyse haben keinen signifikanten Einfluss auf den Test.
b) Antikoagulantien wie Heparin, Citrat, Oxalat und EDTA sowie Natriumfluorid als Glykolysehemmer haben keinen signifikanten Einfluss auf den Test, wenn sie in den üblichen Mengen angewendet werden.

Leistungsdaten des Tests

Die Leistungsdaten wurden mit dem Hitachi® 917s ermittelt.

Linearität

Eine Evaluierung gemäß dem CLSI Protokoll EP6-A ergab einen linearen Meßbereich bis 1000 ng/ml.

Empfindlichkeit

Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt bei 5,8 ng/ml und wurde gemäß dem CLSI Protokoll EP17-A bestimmt.

Präzision

[Wiederholpräzision]

Nachfolgend sind die Daten zur Wiederholpräzision angeführt. Der CV liegt bei einer 21-fachen Wiederholungsmessung nicht über 4,3% bei einer HA-Konzentration von 38,7 ng/ml oder höher.

Probe Nr.	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert [ng/ml]	38,7	307,9	914,4
SD [ng/ml]	1,7	2,8	8,1
CV [%]	4,3	0,9	0,9

[Gesamtpräzision]

Nachfolgend sind die Daten zur Gesamtpräzision angeführt. Alle Daten wurden in Übereinstimmung mit dem CLSI Protokoll EP5-A ermittelt.

Probe Nr.	Probe 1	Probe 2	Probe 3
Mittelwert total [ng/ml]	38,5	308,7	909,2
Totalpräzision ST [ng/ml]	2,04	7,39	18,3
Totalpräzision CV [%]	5,3	2,4	2,0

Spezifität

Die Spezifität wurde durch das Hinzufügen verschiedener endogener Substanzen im Serum untersucht, die einen Einfluss auf die Hyaluronsäurebestimmung haben könnten.

Hämoglobin	[mg/dl]	0	100	200	300	400	500
Hyaluronsäure	[ng/ml]	67,0	66,4	68,8	63,2	66,7	62,8
Wiederfindung	[%]	100,0	99,1	102,7	94,3	99,6	93,7

Bilirubin	[mg/dl]	0	10	20	30	40	50
Hyaluronsäure	[ng/ml]	68,2	65,9	65,5	64,7	65,0	66,2
Wiederfindung	[%]	100,0	96,6	96,0	94,9	95,3	97,1

Konjugiertes Bilirubin	[mg/dl]	0	10	20	30	40	50
Hyaluronsäure	[ng/ml]	69,4	64,3	67,2	66,8	67,1	65,8
Wiederfindung	[%]	100,0	92,7	96,8	96,3	96,7	94,8

Intrafat	[%]	0,0	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Hyaluronsäure	[ng/ml]	68,0	68,4	69,5	69,4	65,5	67,5
Wiederfindung	[%]	100,0	100,6	102,2	102,1	96,3	99,3

Ascorbinsäure	[mg/dl]	0	10	20	30	40	50
Hyaluronsäure	[ng/ml]	62,1	66,2	66,3	63,9	63,2	62,5
Wiederfindung	[%]	100,0	106,6	106,8	102,9	101,8	100,6

EDTA-2Na	[mg/dl]	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Hyaluronsäure	[ng/ml]	65,0	66,2	63,5	65,8	65,6	68,3
Wiederfindung	[%]	100,0	101,8	97,7	101,2	100,9	105,1

Natriumcitrat	[mg/dl]	0,0	0,4	0,8	1,2	1,6	2,0
Hyaluronsäure	[ng/ml]	65,1	61,5	65,5	62,8	65,8	67,4
Wiederfindung	[%]	100,0	94,5	100,6	96,5	101,1	103,5

Ammonium-oxalat	[mg/dl]	0,0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Hyaluronsäure	[ng/ml]	74,6	76,3	76,4	73,9	74,0	77,6
Wiederfindung	[%]	100,0	102,3	102,4	99,1	99,2	104,0

Natriumfluorid	[mg/dl]	0,0	0,6	1,2	1,8	2,4	3,0
Hyaluronsäure	[ng/ml]	76,4	75,2	74,7	72,3	74,4	74,3
Wiederfindung	[%]	100,0	98,4	97,8	94,6	97,4	97,3

Natriumheparin	[mg/dl]	0,00	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
Hyaluronsäure	[ng/ml]	99,4	101,8	101,7	101,9	102,8	103,5
Wiederfindung	[%]	100,0	102,4	102,3	102,5	103,4	104,1

Genauigkeit

Die Genauigkeit dieser Methode wurde anhand einer Wiederfindungsstudie ermittelt.

Testserum 1

Zusatz	[ng/ml]	0,00	40,0	100,0	200,0
Messwert	[ng/ml]	36,5	83,7	140,8	235,6
		39,2	80,1	141,3	242,9
		40,2	79,9	142,1	240,9
Mittelwert	[ng/ml]	38,6	81,2	141,4	239,8
Wiederfindung	[ng/ml]	---	42,6	102,8	201,2
Wiederfindung	[%]	---	106,5	102,8	100,6

Testserum 2

Zusatz	[ng/ml]	0,00	40,0	100,0	200,0
Messwert	[ng/ml]	316,5	354,9	415,8	513,9
		313,2	355,3	419,6	519,4
		308,9	357,1	419,0	510,9
Mittelwert	[ng/ml]	312,9	355,8	418,1	514,7
Wiederfindung	[ng/ml]	---	42,9	105,2	201,8
Wiederfindung	[%]	---	107,3	105,2	100,9

Testserum 3

Zusatz	[ng/ml]	0,00	40,0	100,0	200,0
Messwert	[ng/ml]	751,6	794,8	868,1	943,3
		757,1	796,6	865,5	972,0
		752,5	789,2	857,0	968,5
Mittelwert	[ng/ml]	753,7	793,5	863,5	961,3
Wiederfindung	[ng/ml]	---	39,8	109,8	207,6
Wiederfindung	[%]	---	99,5	109,8	103,8

Die Wiederfindungsrate von Hyaluronsäure beträgt in den oben aufgeführten Konzentrationsbereichen 99,5%–109,8%.

Korrelation

Ein Vergleich zwischen Hyaluronic acid LT und einem ELISA Test (Produkt des Unternehmens A) ergab folgende Daten am Hitachi® 917s.

Probenmaterial	Serum
Korrelationskoeffizient	r = 0,995 (n = 133)
Regressionsgleichung	y = 1,004x + 1,917
x	Produkt des Unternehmens A [ng/ml, Serum]
y	Hyaluronic acid LT [ng/ml, Serum]
x [ng/ml]	Min = 5, Max = 805, Mittelwert = 113
y [ng/ml]	Min = 6, Max = 862, Mittelwert = 115

Ein Vergleich zwischen Serum und Plasma mit Hyaluronic acid LT ergab folgende Daten am Hitachi® 917s.

Korrelationskoeffizient	r = 0,998 (n=36)
Regressionsgleichung	y = 1,013x + 0,275
x	Serum [ng/ml]
y	Plasma [ng/ml]
x [ng/ml]	Min = 7, Max = 221, Mittelwert = 63
y [ng/ml]	Min = 10, Max = 219, Mittelwert = 64

Qualitätskontrolle

Ein Qualitätskontrollprogramm wird allen klinischen Laboren empfohlen. Zur Überwachung der Leistungsfähigkeit des Verfahrens wird empfohlen das HA Control Set von Wako bei jedem Test einzusetzen. Die Messwerte der Kontrollen sollten im Bereich von ± 20% der bekannten Konzentration liegen.

Literatur

1. Stryer T, et al.: Biochemistry [Third Edition]. 1988; 275 - 277.
2. Laurent T.C., et al.: Ciba foundation Symposium. 1986; 124: 9 - 29.
3. Oberli F., et al.: Gastroenterology. 1997; 113 [5]. 1997; 1609 - 1616.
4. Plevis J.N., et al.: Eur J Gastroenterol Hepatol. 2000; 12 [10]: 1121 - 1127.
5. Guechot J., et al.: J Hepatol. 1995; 22 [2 Suppl]: 103 - 106.
6. Pares A., et al.: Hepatology. 1996; 24 [6]: 1399 - 1403.
7. Yamada M., et al.: J Gastroenterol Hepatol. 1996; 11 [7]: 646 - 651.
8. Sandra J., et al.: Hepatology. 2004; 40 [4]: 1200, 687A.
9. Suzuki A., et al.: Liver Int. 2005; 25 [4]: 779 - 786.
10. Frébourg T., et al.: Hepatology. 1986; 6 [3]: 392 - 395.
11. Idobe Y., et al.: Intern Med. 1998; 37 [7]: 568 - 575

Bestellinformation

Best.-Nr.	Produkt	Packung
992-71185	Hyaluronic acid LT	R1: 2 x 15 ml R2: 2 x 6 ml
993-71095	Hyaluronic acid LT	R1: 2 x 31 ml R2: 2 x 11 ml
993-71115	HA Calibrator Set	CAL: 5 Konz. x 2 ml
998-71165	HA Control Set	CONTROL: 2 x 2 Konz. x 2 ml

Hersteller:

FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstr. 12 · 41468 Neuss · Germany
Telephone: +49 2131 311 272 · Fax: +49 2131 311 100
diagnostics_wkeu@fujifilm.com · www.wako-chemicals.de

Wako