

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Hämoglobin im Stuhl	Dokument: SA-KL-IMHB Version: D Seite: 1/6
--	---	--

Änderungshinweis	- automatische Abarbeitung am DSX
------------------	-----------------------------------

Inhaltsverzeichnis

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

	erstellt	geprüft	freigegeben
Datum	17.10.18	18.10.18	18.10.18
Unterschrift			
Name	A. Scholz	M. Wengler	S. Arnoldt QMB

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Hämoglobin im Stuhl	Dokument: SA-KL-IMHB Version: D Seite: 2/6
--	---	--

1. Zweck

1.1. Analyt

Analyt

Immunologisches Hämoglobin im Stuhl

EDV-Kürzel

IFOBT

1.2. Indikation

Test zum Nachweis von humanem Hämoglobin im Stuhl:

- Screening im Rahmen der Darmkrebsvorsorge nach Krebsfrüherkennungsrichtlinie
- Nachweis von gastrointestinalen Blutungen
- bei unklaren abdominalen Beschwerden

2. Prinzip des Analysenverfahrens

Die quantitative Bestimmung des humanen Hämoglobins im Stuhl erfolgt über einen Sandwich – ELISA mit zwei monoklonalen Antikörpern

3. Untersuchungsmaterial

3.1. Probenmaterial

humaner Stuhl (erbsengroße Stuhlprobe; ca. 100 mg) oder Stuhlextrakt

Stuhlprobe muss innerhalb 48 h extrahiert werden

3.2. Lagerung

Die Stuhlextrakte können bei – 20°C bis zu 4 Wochen aufbewahrt werden.

3.3. Ausschlusskriterien

Keine Angabe

4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien

Geräte:

- DSX Automated ELISA System (PM-MI-142)

Hilfsmittel:

- Vortexer

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Hämoglobin im Stuhl	Dokument: SA-KL-IMHB Version: D Seite: 3/6
--	---	--

Reagenzien

Stuhlextraktionskit – Master Quick-Prep (ScheBo)

Stuhlaufbereitungsröhrchen mit Extraktionspuffer gebrauchsfertig

- Lagerung im Kühlschrank bei 4°C – 8°C
→ vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen, Haltbarkeit ist der jeweiligen Packung zu entnehmen

Hb Smart™ Stuhltest (ScheBo)

- Lagerung im Kühlschrank bei 4°C – 8°C
→ vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen, Haltbarkeit ist der jeweiligen Packung zu Entnehmen

- anti Hb-Biotin-POD-Streptavidinkomplex gebrauchsfertig, lichtempfindlich
- TMB-Substratlösung gebrauchsfertig, lichtempfindlich
- Stopplösung gebrauchsfertig
- Smart Diluent gebrauchsfertig

- Waschpuffer 5-fach konzentriert,
→ Waschpuffer (100 ml) mit 400 ml entionisierten Wasser verdünnen,
Waschpuffer verdünnt 6 Monate bei 4°C – 8°C haltbar

- beschichtete Mikrotiterstreifen
→ nach Anbruch im Kühlschrank im Folienbeutel mit Trockenmittel gut verschlossen aufbewahren

- Halterung für einzelne Streifen

Standards 1-3, Positiv- und Negativ-Kontrolle lyophilisiert
→ Standards und Kontrollen mit je 500 µl Smart Diluent auflösen (vortexen),
bei 4°C – 8°C 4 Monate haltbar

5. Durchführung

5.1. Probenvorbereitung

- barcodierte extrahierte Stuhl-Röhrchen in die entsprechenden Geräte-Racks einsetzen und auf die Ausrichtung der Barcode-Etiketten achten
- Stuhlproben aufbereiten, wenn nicht bereits extrahierter Stuhl eingesandt wurde

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Hämoglobin im Stuhl	Dokument: SA-KL-IMHB Version: D Seite: 4/6
--	---	--

- **Stuhlaufbereitung**

- Aufbereitungsröhrchen an Hand der Arbeitsplatzliste beschriften
- weiße Dosierspitze nach links drehen und herausziehen
- Spitze mit bohrenden Bewegungen ca. 1 cm in Stuhl tauchen
WICHTIG: Alle Kerben der Dosierspitze müssen mit Stuhl gefüllt sein.
- Dosierspitze durch den roten Einsatz zurück in das Röhrchen stecken und nach rechts verschrauben
- gut mischen auf Vortexer
- 10 min. extrahieren bei Raumtemperatur
- erneut mischen
WICHTIG: Stuhl aus allen Kerben muss in die Lösung gehen
- roten Konuseinsatz zum Öffnen des Röhrchens nach links drehen, bis zum „Knacken“ nach hinten drücken und mit der weißen Spitze aus dem Röhrchen ziehen
- suspendierte Stuhlpartikel absetzen lassen

5.2. Testdurchführung

- Abarbeitung erfolgt online → Online des DSX im Mikrobiologie-Modul stoppen und anschließend im LA-Modul in der Online-Steuerung den DSX-Online wieder starten
BAK-Menue → DSX-Menü → Status DSX → Online stoppen
Online-Validation → Online-Steuerung → DSX → F3 Start
- Proben auf den DSX stellen und Abarbeitung starten

→ siehe Prüfmittelanweisung PA-MI-142 DSX
- nach Beendigung der Messung und nach der technischen Validation der gemessenen Werte muss der Online wieder umgestellt werden
Online-Validation → Online-Steuerung → DSX → F4 Stopp
BAK-Menue → DSX-Menü → Status DSX → Online starten

6. Interne Qualitätskontrolle

6.1. Durchführung der Kontrollen

Kontrollen werden bei jedem Ansatz mitgeführt

- Positiv- und Negativ-Kontrolle (lyophilisiert) in der Packung enthalten
→ Kontrolle mit je 500 µl Smart Diluent auflösen (vortexen), bei 4°C – 8°C 4 Monate haltbar
- die Kontrollergebnisse werden manuell in die Labor-EDV eingegeben

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Hämoglobin im Stuhl	Dokument: SA-KL-IMHB Version: D Seite: 5/6
--	---	--

6.2. Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse

Nach Prüfung der Qualitätskontrollen werden die Ergebnisse mittels technischer Validation durch den Bediener freigegeben.

Die Ergebnisse von stark flüssigen Stühlen sind mit einem Freitext zu versehen.

6.3. Maßnahmen bei Abweichung

Kontrolle der Kitkomponenten visuell auf Kontamination oder Undichtigkeit.

Neuer Testansatz ggf. mit neuem Reagenzkit.

7. Beurteilung und Grenzen des Verfahrens

7.1. Angabe von Präzision und Richtigkeit

Siehe Packungsbeilage des Reagenzherstellers bzw. Unterlagen der Qualitätskontrolle.

7.2. Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze

Messbereich: 15 – 60 µg Hb/ g Stuhl

analytische Sensitivität: 0,42 µg Hb/ g Stuhl

7.3. Angabe von Linearität und Spezifikation

Siehe Packungsbeilage des Reagenzherstellers

7.4. Angaben zur Methodvalidierung

Siehe Packungsbeilage „Präzision“, Unterlagen der Qualitätskontrolle sowie Vergleichsmessungen

8. Ergebnisse und Befundbericht

8.1. Angabe des Ergebnisses

Immunologisches Hb im Stuhl = µg Hb/ g Stuhl

Werte unterhalb des Messbereichs werden als < 15 µg Hb/ g Stuhl angegeben

Werte oberhalb des Messbereichs werden als > 60 µg Hb/ g Stuhl angegeben

8.2. Referenzbereich

Cut-off: < 25 µg Hb/ g Stuhl $\hat{=}$ negativ

Werte \geq 25 µg Hb/ g Stuhl gelten als erhöht. Eine weitergehende diagnostische Abklärung ist unbedingt erforderlich.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Hämoglobin im Stuhl	Dokument: SA-KL-IMHB Version: D Seite: 6/6
--	---	--

9. Hinweise und Störungen

- Stark flüssige Stühle können zu falsch normalen Werten führen.
- gründliches Durchmischen der Reagenzien ohne Schaumbildung.
- Mikrotiterstreifen im Folienbeutel mit Trockensubstanz aufbewahren
- Nach dem Waschen verbleibende Wasserrückstände sind gründlich zu entfernen
- Testergebnisse werden nicht durch Nahrungsmittelbestandteilen verfälscht

10. Referenzen

L. Thomas „Labor und Diagnose“ 8. Auflage 2012 S. 776 ff.
T. Arndt, A. M. Gessner „Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik“ 1.Band

11. Anlagen

Packungsbeilagen und Produktinformationen des Reagenzherstellers
FB 65 „Methodenüberprüfung“

Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses über die Früherkennung von
Krebserkrankungen (Krebsfrüherkennungs-Richtlinie / KFE-RL) vom 21.04.2016
Inkrafttreten: **01.01.2017**

Krebsfrüherkennungs-Richtlinie: Bewertung eines iFOBT-basierten Darmkrebsscreenings im
Vergleich zu einem gFOBT-basierten Darmkrebsscreening vom 21.04.2016
Inkrafttreten: **01.01.2017**

<https://www.g-ba.de/informationen/beschluesse/2572/>