

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	<b>Standardarbeitsanweisung</b>  <b>Treponema pallidum – Blot</b>	Dokument: SA-SE-LUESWB Version: D Seite: 1/5
--	---	--

Änderungshinweis	<ul style="list-style-type: none"> <li>- geänderter Reagenzhersteller und damit verbunden geänderte Durchführung und Kontrollen</li> <li>- Hinweise und Störungen</li> </ul>
------------------	--

## Inhaltsverzeichnis

1.	Zweck.....	2
1.1.	Analyt.....	2
1.2.	Klinische Bedeutung .....	2
2.	Prinzip des Analysenverfahrens.....	2
3.	Untersuchungsmaterial .....	2
4.	Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien .....	2
4.1.	Geräte.....	2
4.2.	Hilfsmittel .....	2
4.3.	Reagenzien.....	3
5.	Durchführung .....	3
5.1.	Kalibrierung.....	3
5.2.	Testablauf .....	3
5.3.	Auswertung.....	4
6.	Qualitätskontrolle .....	4
6.1.	Durchführung der Qualitätskontrolle .....	4
7.	Beurteilung und Grenzen des Verfahrens.....	4
7.1.	Angabe von Linearität und Spezifikation .....	4
7.2.	Angaben zur Methodvalidierung .....	4
8.	Ergebnisse und Befundbericht .....	5
8.1.	Angabe des Ergebnisses .....	5
8.2.	Referenzbereich.....	5
9.	Hinweise und Störungen .....	5
10.	Referenzen .....	5
11.	Anlage.....	5

	<b>erstellt</b>	<b>geprüft</b>	<b>freigegeben</b>
Datum	08.04.15	09.04.15	10.04.15
Unterschrift			
Name	E. Etzold	M. Hauschild	S. Arnoldt
Abteilung			QM-Beauftragter

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	<b>Standardarbeitsanweisung</b>  <b>Treponema pallidum – Blot</b>	Dokument: SA-SE-LUESWB Version: D Seite: 2/5
--	---	--

## 1. Zweck

### 1.1. Analyt

Antikörper gegen Treponema pallidum – IgG und IgM

EDV-Kürzel

LUESG, LUESM

### 1.2. Klinische Bedeutung

Bestätigungstest für TPPA

## 2. Prinzip des Analyseverfahrens

Immunoblot

## 3. Untersuchungsmaterial

Probenmaterial: Serum, Plasma

Stabilität, Lagerbedingungen: Untersuchungsmaterial bei +2°C bis +8°C bis 14 Tage aufbewahren.

Mindestmenge: 20 µl Probenmaterial pro Immunglobulin-Klasse

Ausschlußkriterien: entfällt

**Probenlagerung nach der Analyse: max. 4 Wochen in der Kühlzelle**

## 4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien

### 4.1. Geräte

- Blotschüttler

### 4.2. Hilfsmittel

- Aqua dest (entionisiertes Wasser)
- Glaskolben
- Multipipette
- Eppendorfpipetten
- Inkubationswanne

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	<b>Standardarbeitsanweisung</b>  <b>Treponema pallidum – Blot</b>	Dokument: SA-SE-LUESWB Version: D Seite: 3/5
--	---	--

### 4.3. Reagenzien

➤ recomLine Treponema IgG, IgM der Fa. Mikrogen

Testpackung bei +2°C bis +8°C aufbewahren, ungeöffnet bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

- Beschichtete Teststreifen : gebrauchsfertig
- Waschpuffer: 1:10 mit entionisiertem Wasser verdünnen (100 ml Waschpufferkonzentrat + 5g Magermilchpulver + 900 ml entionisiertes Wasser; die 5g Magermilchpulver werden erst im Waschpufferkonzentrat aufgelöst, danach diese Mischung mit 900 ml entionisiertem Wasser auf das Endvolumen auffüllen) Verdünnter Waschpuffer ist bei +2°C bis +8°C 4 Wochen haltbar.
- Enzymkonjugat IgG und IgM: 1+ 100 mit gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer verdünnen. Menge richtet sich nach benötigten Blotstreifen (siehe Packungsbeilage Pkt.: 7.2.2 ). Verdünntes Enzymkonjugat am gleichen Tag aufbrauchen.
- Substratlösung: gebrauchsfertig

## 5. Durchführung

### 5.1. Kalibrierung

entfällt

### 5.2. Testablauf

- Inkubationsrinnen der Wanne (je nach Anzahl der benötigten Streifen) mit **2 ml** Waschpuffer füllen → benötigte Menge von Blotstreifen mit einer Pinzette in je eine mit Puffer gefüllte Inkubationsrinne legen.
- **20 µl** unverdünnte Probe zum Teststreifen pipettieren (Verdünnung 1+100)
- abgedeckt **60 min** bei Raumtemperatur auf Blotschüttler inkubieren.
- Flüssigkeit vollständig abgießen
- 3 x 5 Minuten mit je **2 ml** Waschpuffer auf Blotschüttler waschen
- Flüssigkeit vollständig abgießen
- **2 ml** des jeweils benötigten verdünnten Enzymkonjugats (IgG) in Inkubationswanne pipettieren
- abgedeckt **45 min** bei Raumtemperatur auf Blotschüttler inkubieren
- Flüssigkeit vollständig abgießen
- 3 x 5 Minuten mit je **2 ml** Waschpuffer auf Blotschüttler waschen
- Flüssigkeit vollständig abgießen
- **1,5 ml** Substratlösung in Inkubationsrinnen pipettieren
- **10 min** bei Raumtemperatur auf Blotschüttler inkubieren
- Flüssigkeit vollständig abgießen
- 3 x 1 Minute mit entionisiertem Wasser spülen, anschließend Streifen trocknen

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	<b>Standardarbeitsanweisung</b>  <b>Treponema pallidum – Blot</b>	Dokument: SA-SE-LUESWB Version: D Seite: 4/5
--	---	--

### 5.3. Auswertung

#### manuelle Auswertung

Auf dem Auswertebogen Patientenummer sowie Datum und Chargennummer der Reagenzpackung notieren.

Streifen auf Auswertebogen kleben und mit Hilfe der aufgedruckten Interpretationshilfe bewerten (Auswertebogen siehe Anlage)

Alle Banden, die eine höhere Intensität haben als die Cut-off-Bande, werden als positiv angegeben.

Ergebnisse werden in die Labor-EDV eingegeben, eine zusätzliche Dokumentation erfolgt auf dem Auswertebogen.

## 6. Qualitätskontrolle

### 6.1. Durchführung der Qualitätskontrolle

#### ➤ gebrauchsfertige Positiv- und Negativ-Kontrolle der Fa. Mikrogen

Stabilität: - bei 2 - 8°C im Kühlschrank bis zum angegebenen Datum haltbar

→ [Mitführen der Positiv- und Negativ-Kontrolle einmal pro Testpackung](#)

Die Dokumentation erfolgt auf dem Auswertebogen und in der Labor-EDV.

Eine zusätzliche Qualitätskontrolle erfolgt mittels Reaktionskontrolle auf jedem Streifen.

- Reaktionskontroll-Bande (oberste Linie): deutliche dunkle Färbung
- IgG- bzw. IgM-Antikörperklasse (zweite Bande): deutliche Färbung
- Cut-off- Kontrolle (fünfte Bande): schwache, aber sichtbare Färbung

Die Dokumentation dieser Kontrollen erfolgt auf den Auswerteprotokollen der Fa. Mikrogen. Diese Protokolle sind 5 Jahre aufzubewahren (lt. RiliBÄK spezieller Teil B 2 von 2011)

## 7. Beurteilung und Grenzen des Verfahrens

### 7.1. Angabe von Linearität und Spezifikation

siehe Packungsbeilage „Leistungsmerkmale“

### 7.2. Angaben zur Methodvalidierung

siehe Packungsbeilage „Leistungsmerkmale“

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	<b>Standardarbeitsanweisung</b>  <b>Treponema pallidum – Blot</b>	Dokument: SA-SE-LUESWB Version: D Seite: 5/5
--	---	--

## 8. Ergebnisse und Befundbericht

### 8.1. Angabe des Ergebnisses

negativ  
grenzwertig  
positiv

Die Interpretation der Befunde erfolgt durch einen Laborarzt

Positive Luesbefunde werden dem Robert-Koch-Institut (nicht namentlich) gemeldet.  
Der Durchschlag des Meldebogens und eine Kopie des Befundes werden abgeheftet

### 8.2. Referenzbereich

Negativ

## 9. Hinweise und Störungen

- Blot-Streifen nur mit einer Pinzette am Etikett anfassen
- Substratlösung immer lichtgeschützt aufbewahren
- darauf achten, dass die Streifen beim Ansatz immer vollständig mit der entsprechenden Lösung bedeckt sind
- die in diesem Test verwendeten Antigene Tp47; TmpA; TP257 (Gpd); Tp453; Tp17 und Tp15 sind charakteristisch für Treponema, die bei Borrelien-positiven Seren keine Reaktivität zeigen
- ein negatives Testresultat kann eine Infektion mit Treponema pall. nicht ausschließen, eine Kontrolluntersuchung sollte nach 4 Wochen erfolgen

## 10. Referenzen

Hahn, Falke „Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie“ 5. Auflage 2005

H.-J. Hagedorn MIQ 16-2001 „Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik“

RKI Epidemiologisches Bulletin Syphilis in Deutschland Nr. 50 15.12.2014

RKI Epidemiologisches Bulletin Syphilis in Deutschland Nr. 29 20.07.2007

L. Thomas „Labor und Diagnose“ 8. Auflage 2012 S.: 2006 ff.

## 11. Anlage

Packungsbeilage

Kopie des Auswerteprotokolls