

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Mumps und Masern IgG, IgM (ELISA)	Dokument: SA-SE-MUMA Version: F Seite: 1/6
--	---	--

Änderungshinweis	- Umstellung der Bestimmung von Mumps-AK von IFT auf ELISA (SA-SE-MASE entfällt)
------------------	--

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	3
4.1.	Geräte	3
4.2.	Hilfsmittel	3
4.3.	Materialien	3
5.	Durchführung	3
5.1.	Probenvorbereitung	3
5.2.	Kalibrierung.....	4
5.3.	Testablauf	4
5.4.	Berechnung.....	4
6.	Interne Qualitätskontrolle	4
6.1.	Durchführung der Qualitätskontrolle	4
6.2.	Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse.....	4
7.	Beurteilung und Grenzen des Verfahrens	5
7.1.	Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze	5
7.2.	Angabe von Linearität und Spezifikation	5
7.3.	Methodenvalidierung.....	5
8.	Ergebnisse und Befundbericht	5
8.1.	Angabe des Ergebnisses	5
8.2.	Referenzbereich.....	6
9.	Hinweise und Störungen	6
10.	Referenzen	6
11.	Anlagen.....	6

	erstellt	geprüft	freigegeben
Datum	11.06.18	12.06.18	14.06.18
Unterschrift			
Name	E. Etzold	M. Sachs	S. Arnoldt QM-Beauftragter

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Mumps und Masern IgG, IgM (ELISA)	Dokument: SA-SE-MUMA Version: F Seite: 2/6
--	---	--

1. Zweck

1.1. Analyt

<u>Analyt</u>	<u>EDV-Kürzel</u>
Masern IgG-AK	MASGE
Masern IgM-AK	MASME
Mumps IgG-AK	MUMGE
Mumps IgM-AK	MUMME

1.2. klinische Bedeutung

- bei klinischem Verdacht auf Vorliegen einer Infektion
 - IgG: weisen auf einen zurückliegenden Kontakt mit dem Virus hin
 - IgM: Hinweis auf akute Infektion
- Masern: - Viren verursachen eine akute fieberhafte Erkrankung vorwiegend im Kindesalter
→ sehr ansteckend
- gekennzeichnet durch Katarrh der oberen Luftwege, typisches Exanthem und Veränderungen der Schleimhäute
- Mumps: - akute fieberhafte Erkrankung vorwiegend im Kindesalter → sehr ansteckend
- gekennzeichnet durch entzündliche Schwellung der Parotis
- Anti-Mumps-Viren-ELISA (IgG) ist geeignet zur Bestimmung des Immunstatus sowie zur Impfkontrolle

2. Prinzip des Analysenverfahrens

ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*)

3. Untersuchungsmaterial

Probenmaterial:	Serum , EDTA-, Heparin- oder Citrat-Plasma
Stabilität, Lagerbedingungen:	14 Tage bei 2-8°C (Kühlzelle) (verdünnte Proben müssen innerhalb eines Arbeitstages inkubiert werden)
Mindestmenge:	10 µl Für die automatische Abarbeitung muss der Inhalt des Probencups mindestens 300 µl betragen.
Ausschlusskriterien:	entfällt

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Mumps und Masern IgG, IgM (ELISA)	Dokument: SA-SE-MUMA Version: F Seite: 3/6
--	---	--

4. Benötigte Geräte, Hilfsmittel und Materialien

4.1. Geräte

EUROIMMUN Analyser I PM – SE – 109

4.2. Hilfsmittel

- entionisiertes Wasser
- Teströhrchen
- Pipetten
- Pufferbehälter
- Reagenzgefäße

4.3. Materialien

- alle Reagenzien ca. 30 min vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen
- Schutzhülle der Mikrotiterplatten erst öffnen, wenn diese Raumtemperatur angenommen haben

4.3.1. Reagenzien (der Fa. EUROIMMUN)

- Beschichtete Mikrotiterplatten – gebrauchsfertig. Angebrochene Mikrotiterplatten nach dem Öffnen in der Schutzhülle bei 2°- 8°C aufbewahren, maximal 4 Monate
- Enzymkonjugat – gebrauchsfertig (gut durchmischen)
- Probenpuffer (**IgG**) - gebrauchsfertig
- Probenpuffer (**IgM**) (grün gefärbt) enthält Antikörper von der Ziege, die gegen humanes IgG gerichtet sind und darf nicht für die IgG-Bestimmung benutzt werden. Der Probenpuffer für die IgM-Bestimmung ist gebrauchsfertig.
- Chromogen/Substrat-Lösung – gebrauchsfertig , lichtgeschützt aufbewahren, bei Verfärbung nicht mehr anwenden
- Waschpuffer – 10 fach konzentriert, die Herstellung erfolgt mit entionisiertem Wasser (1Teil Reagenz + 9 Teile Wasser). Aufbewahrung bei 2-8°C max. 1 Monat.
- Stopplösung – gebrauchsfertig
- Kalibratoren und Kontrollen – gebrauchsfertig, vor Gebrauch gut durchmischen

5. Durchführung

5.1. Probenvorbereitung

Bei sehr wenig Probenmaterial wird die Probe in spezielle Probencups für geringe Probenmengen eingefüllt und anschließend in ein Rack mit Y – Markierung gestellt.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	<p style="text-align: center;">Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Mumps und Masern IgG, IgM (ELISA)</p>	Dokument: SA-SE-MUMA Version: F Seite: 4/6
--	--	--

5.2. Kalibrierung

Die Standards (Kalibrator 1-4 für Masern-IgG, Kalibrator 1-3 für Mumps-IgG sowie jeweils ein Kalibrator für IgM) und zwei Kontrollen sind gebrauchsfertig und werden in Einzelbestimmung eingesetzt. Die Lagerung erfolgt bei 2-8°C, die Haltbarkeit ist auf den Flaschen ausgewiesen. Die Kalibration erfolgt in jeder Serie und wird mittels positive und negative Kontrolle überprüft. Liegen die Kontrollen außerhalb des Toleranzbereichs werden die Ergebnisse nicht freigegeben.

5.3. Testablauf

Die Proben werden vom Probenverteiler in Sekundärgefäße pipettiert. Die barcodierten Sekundärröhrchen und Kontrollen werden ins Gerät gestellt. Die Probenverdünnung erfolgt automatisch durch den Analyser.

Genaue Durchführung siehe Prüfmittelanweisung PA-SE-109.

5.4. Berechnung

Die Berechnung erfolgt automatisch mittels aktueller Standardkalibrationskurve bzw. des Cut-off Wertes (IgM), die in jeder Serie neu erstellt werden.

6. Interne Qualitätskontrolle

6.1. Durchführung der Qualitätskontrolle

Masern-IgG Positiv- und Negativkontrolle
Masern-IgM Positiv- und Negativkontrolle
Mumps-IgG Positiv- und Negativkontrolle
Mumps-IgM Positiv- und Negativkontrolle

sind gebrauchsfertig und werden in jeder Serie durchgeführt
→ bis zum angegebenen Datum haltbar

Die Dokumentation der gemessenen Werte erfolgt im Qualitätskontroll-Programm der Labor-EDV. Ein Ausdruck erfolgt vierteljährlich.

6.2. Freigabe und Dokumentation der Ergebnisse

Nach Prüfung der Kalibration und der Kontrollen erfolgt die Freigabe der Ergebnisse. Werte werden online in die Labor-EDV übertragen und vom Bediener technisch validiert. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgt durch einen Laborarzt.

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Mumps und Masern IgG, IgM (ELISA)	Dokument: SA-SE-MUMA Version: F Seite: 5/6
--	---	--

7. Beurteilung und Grenzen des Verfahrens

7.1. Angabe von Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze

Masern-IgG

Die untere Nachweisgrenze beträgt: 8 IE/l

Die obere Nachweisgrenze beträgt ca: 5000 IE/l

Konzentrationen > 5000 IE/l werden nicht verdünnt.

Die Angabe des Messergebnisses lautet dann >5000 IE/l.

Masern-IgM

Nachweisempfindlichkeit liegt bei einer Ratio von 0,02

Mumps-IgG

Die untere Nachweisgrenze beträgt: 0,3 RE/ml

Die obere Nachweisgrenze beträgt: 200 RE/ml

Konzentrationen > 200 RE/ml werden nicht verdünnt.

Die Angabe des Messergebnisses lautet dann >200 RE/ml.

Mumps-IgM

Nachweisempfindlichkeit liegt bei einer Ratio von 0,03

7.2. Angabe von Linearität und Spezifikation

Der Masern-IgG-ELISA ist im Messbereich von 52 – 4865 IE/l linear

Der Mumps-IgG-ELISA ist im Messbereich von 4 – 164 RE/ml linear

7.3. Methodvalidierung

siehe Packungsbeilage Pkt. „Reproduzierbarkeit“ sowie FB „Methodenvalidierung“

8. Ergebnisse und Befundbericht

8.1. Angabe des Ergebnisses

Masern- IgG: IE/l (Internationale Einheiten)

Mumps- IgG: RE/ml (relative Einheiten)

Mumps und Masern-IgM: Ratio

Medizinisches Zentrallabor Altenburg	Standardarbeitsanweisung Sammelstandardarbeitsanweisung Mumps und Masern IgG, IgM (ELISA)	Dokument: SA-SE-MUMA Version: F Seite: 6/6
--	---	--

8.2. Referenzbereich

Masern-IgG-Antikörper	< 200 IE/l	negativ
	≥ 200 bis < 275 IE/l	grenzwertig
	≥ 275 IE/l	positiv

Mumps-IgG-Antikörper	< 16 RE/ml	negativ
	≥ 16 bis < 22 RE/ml	grenzwertig
	≥ 22 RE/ml	positiv

Mumps- und Masern-IgM-Antikörper:	Ratio < 0,8	negativ
	Ratio ≥ 0,8 bis < 1,1	grenzwertig
	Ratio ≥ 1,1	positiv

9. Hinweise und Störungen

- Alle Reagenzien (außer Teströhrchen) bis zur Verwendung bei 2-8°C lagern!
- Reagenzgefäße mit Trockenmittel in der geschlossenen Schutzhülle aufbewahren
- Es ist nur entionisiertes oder destilliertes Wasser zu verwenden
- Vor der **Bestimmung der IgM-AK** müssen die IgG-AK aus der Probe entfernt werden, um zu verhindern, dass Rheumafaktor IgM zu falsch positiven bzw. spezifisches IgG zu falsch negativen Testergebnissen führen (siehe Packungsbeilage „Vorbereitung und Haltbarkeit der Proben“)
- Die IgG-Absorption erfolgt vor dem Ansatz automatisch vom Gerät durch Probenverdünnung 1:101 mit Probenpuffer IgM (grün).

10. Referenzen

Kayser, Böttger, Deplazes, Haller, Roers „Taschenbuch Medizinische Mikrobiologie“
13. Auflage 2014

Suerbaum, Burchard, Kaufmann, Schulz „Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie“
8. Auflage 2016

Hahn, Falke, Kaufmann, Ullmann „Med. Mikrobiologie und Infektiologie“ 5. Auflage 2005

Hofmann, Tiller „Praktische Infektiologie“ 2000

11. Anlagen

Packungsbeilagen der Fa. EUROIMMUN