

INTEX[®]-CRP Card Test

Gebrauchsanweisung

Immunoassay zur semi-quantitativen Sofortbestimmung von CRP (C-reaktives Protein) im Humanblut

A. Allgemeine Informationen

1. Einleitung

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akut-Phase-Protein, welches in der Leber als Antwort auf Cytokin-Stimulation (IL-6, IL-1, TNF-alpha, Interferon-Gamma) gebildet wird. Es bindet an Oberflächenmoleküle von Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Parasiten), bewirkt eine Agglutination und Präzipitation und aktiviert das Komplementsystem über den klassischen Weg. CRP bindet an Lymphozyten mit Fc-Rezeptoren und kann die Aggregation von Thrombozyten bewirken.

Die Messung des CRP-Wertes ist eine anerkannte und etablierte Methode zur Überwachung einer Entzündungsreaktion. Die normale Konzentration von CRP im Blut beträgt < 6 mg/L. Innerhalb von 6-48 Stunden nach Initiierung einer Entzündung steigt die CRP-Konzentration im Blut an. Dieser Anstieg geht der klinischen Symptomatik und dem Anstieg der Blutsenkungsgeschwindigkeit voraus.

Die CRP-Bestimmung ist weitgehend unabhängig von Faktoren, die die Blutsenkungsgeschwindigkeit und die Leukozytenzahl beeinflussen. Die Kinetik des CRP wird nicht von seiner physiologischen Funktion beeinflusst. Der momentane Plasmaspiegel ist also alleiniger Ausdruck der Syntheserate und damit der Entzündungsreaktion. Die CRP-Messung ist gegenüber der Messung der Blutsenkungsgeschwindigkeit vor allem bei Kindern von Vorteil, da die benötigte Blutmenge geringer, aber auch die Testdauer kürzer ist und das Ansprechen auf eine Therapie rascher beobachtet werden kann.

2. Klinische Relevanz

Die CRP-Konzentration im Blut ist ein sehr empfindlicher Indikator der Entzündungsaktivität. Aufgrund der kurzen Reaktions- und Halbwertszeit (20-30 Stunden) wird eine Änderung der Entzündungsreaktion sehr rasch angezeigt. Unterschiedliche Entzündungen gehen dabei summativ in den CRP-Wert ein.

Der individuelle, genetisch determinierte CRP-Wert (Basiswert) weist im Gesundheitszustand nur geringe Schwankungen auf. Ein erhöhtes CRP ist deshalb fast immer mit pathologischen Veränderungen verbunden und besitzt somit einen hohen Stellenwert bei der Diagnose, Verlaufskontrolle und Therapiekontrolle. Höchste Aussagekraft haben wiederholte CRP-Messungen bei fortschreitendem Krankheitsgeschehen.

Erhöhte Konzentrationen (6-100 mg/L) werden bei akuten Erkrankungen gefunden, so zum Beispiel bei lokalen bakteriellen Infektionen, bakteriellen Superinfektionen, viralen Erkrankungen sowie bei rheumatischen Erkrankungen und Herzinfarkten. Auch ein unkomplizierter postoperativer Verlauf wird von einer kurzzeitigen Erhöhung der CRP-Konzentration begleitet. Der CRP-Anstieg korreliert mit der Krankheitsaktivität und der Menge des in den Entzündungsvorgang einbezogenen Gewebes.

Werte über 100 mg/L sprechen für eine hohe Entzündungsaktivität und treten beispielsweise bei Sepsis, schweren Infektionen und metastasierenden Tumoren auf. Werte jenseits von 300 mg/L gelten als exzessiv und können möglicherweise sogar auf eine lebensbedrohliche Situation hinweisen.

CRP bei ausgewählten Krankheitsbildern:

Oberer Respirationstrakt: Bronchitis, Grippe und Infektionen des oberen Respirationstraktes sind die häufigsten Infektionen im niedergelassenen Bereich. Hier ermöglicht CRP häufig eine Unterscheidung zwischen viralen und bakteriellen Entzündungen. Hohe CRP-Werte (> 25 mg/L) weisen auf eine bakterielle Entzündung (z.B. Pneumonie) hin; ein geringer CRP-Anstieg spricht hingegen für einen viralen Infekt.

Infektiöse Komplikationen während der Schwangerschaft: Während einer Schwangerschaft verschiebt sich der Basiswert des CRP generell nach oben; gegen Ende auf über 10 mg/L. Ein ausbleibender Abfall nach der Geburt ist ein starker Hinweis auf infektiöse Komplikationen. Ein über den erhöhten Basiswert hinausgehender Anstieg des CRP während der Schwangerschaft kann auf intrauterine Infektionen oder vorzeitigen Blasensprung hinweisen.

Meningitis: Eine Grenze von ca. 20 mg/L hilft, die Entscheidung zwischen bakterieller und viraler Meningitis zu treffen. Bei Jugendlichen und Erwachsenen verschiebt sich die Grenze auf 50 mg/L.

Entzündliche Darmerkrankung: Mit Hilfe des CRP kann zwischen organischen Darmerkrankungen und dem Colon irritabile unterscheiden werden. Bei Morbus Crohn korreliert die Höhe des CRP gut mit der Krankheitsaktivität.

Rheumatoide Arthritis: Patienten mit rheumatoider Arthritis zeigen erhöhte CRP-Werte in Abhängigkeit vom Krankheitsverlauf (bis über 200 mg/L). Diese korrelieren gut mit den klinischen Symptomen. Hingegen ist die Dynamik der Änderung der Entzündungsaktivität bedeutend geringer als bei Infektionskrankheiten.

Kardiovaskuläre Erkrankungen: Durch den Zelltod beim akuten Myokardinfarkt kommt es zum CRP-Anstieg. Dieser Anstieg ist vom Ausmass der Zellschädigung abhängig. Es konnte gezeigt werden, dass ein erhöhter CRP-Basiswert das Risiko einer Herzkrankgefässerkrankung und eines Hirnschlages vorhersagt. Der entsprechende Wertebereich kann jedoch vom INTEX[®] CRP-Card Test nicht präzise erfasst werden. Wir empfehlen daher, bei Verdacht auf kardiovaskuläre Erkrankungen einen CRP „high sensitivity“ Test einzusetzen.

Bei einzelnen Krankheitsbildern kommt es trotz aktivem Entzündungsprozess mit Gewebeschädigung nur zu einem geringen Anstieg des CRP-Spiegels, so zum Beispiel beim Systemischen Lupus Erythematoses, bei Colitis Ulcerosa, bei Leukämie, Sclerodermie und Dermatomyositis. Es handelt sich dabei jedoch um definierte Krankheitsbilder, wodurch die diagnostische Potenz des CRP nicht gemindert wird. Kommt es bei Patienten mit den oben genannten Erkrankungen zusätzlich zu einer Infektion, steigt das CRP wie erwartet an.

CRP bei Gesunden: Bei der Interpretation des CRP-Wertes ist zu berücksichtigen, dass verschiedene Patientencharakteristika den Basiswert des CRP verändern können. Folgende Faktoren sind dabei zu beachten:

| | |
|-------------------------|---|
| Alter | Kinder haben geringere Normalwerte als Erwachsene |
| Raucher | Gesunde Erwachsene haben einen 10-fach erhöhten CRP-Median |
| Ernährungsstatus | Schwerste metabolische Mangelzustände führen zu einer abgeschwächten Akute-Phase-Reaktion |
| Körperliche Anstrengung | Abhängig vom Trainingszustand steigt das CRP nach körperlicher Belastung |
| Schwangerschaft | Während der Schwangerschaft steigt der CRP-Wert kontinuierlich bis maximal 20 mg/L bei der Geburt |
| Behandlung vor dem Test | Antibiotika und Steroidgabe beeinflussen die akute Phase Reaktion und damit das CRP |

3. Testprinzip

Der INTEX[®]-CRP Card Test ein immunchemischer Schnelltest zur Bestimmung der CRP-Konzentration im menschlichen Blut. Die zu untersuchende Probe (Kapillarblut, Heparin-Blut oder EDTA-Blut) wird zunächst verdünnt und lysiert und anschließend auf das Testfeld aufgetragen. Während die verdünnte Probe durch die Membran gesaugt wird, bindet das in der Probe enthaltene CRP an einen anti-CRP-Antikörper, der auf der Membran im Testfeld immobilisiert ist. Anschliessend wird ein gold-gekoppelter monoklonaler anti-Human-CRP-Antikörper zum Testfeld beigegeben, das CRP, welches in der Membran zurückgeblieben ist, bindet. Nach dem Waschen kann die Menge des gebundenen kolloidalen Goldes über die resultierende Farbe bestimmt werden. Die Intensität der Farbe korreliert mit dem Gehalt an CRP in der Analyseprobe.

Der INTEX[®]-CRP Card Test wird mit Hilfe der um das Testfeld herum angeordneten Farbsektoren visuell ausgewertet und der Gehalt an spezifischem CRP in 5 Konzentrationsbereichen (10, 25, 50, 100 und 200 mg/L) bestimmt. Obwohl der Test mit Vollblut durchgeführt wird, beziehen sich die Angaben auf die Serumkonzentration. Dabei wird ein Hämatokritwert von 40% angenommen.

4. Literatur

Husebekk A, Hansson L-O: C Reactive Protein in Clinical Practice, ed 2. Oslo, Nycopharma AS, 1999.

Claus DR, Osmand AP, Gewurz H: Radioimmunoassay of human C-reactive protein and levels in normal sera. J Lab Clin Med 1976;87:120–128.

Wood WG, Ludemann J, Mitusch R, Heinrich J, Maass R, Frick U: Evaluation of a sensitive immunoluminometric assay for the determination of C-reactive protein (CRP) in serum and plasma and the establishment of reference ranges for different groups of subjects. Clin Lab 2000;46:3–4.

Pepys MB: The acute phase response and C-reactive protein. In Weatherall DJ, Ledingham JGC, Warell DA (eds): Oxford Textbook of Medicine, ed 2. Oxford, Oxford University Press, 1995, pp. 1527–1533.

B. Testinformationen

5. Technische Daten

| | |
|----------------------------|---|
| Untersuchungsmaterial: | Kapillar- oder Venenblut, mit oder ohne Antikoagulanzen (EDTA, Heparin, Citrat) |
| Erforderliche Probenmenge: | 5 µL |
| Gesamtdauer: | 5-10 min |
| Messbereich: | < 10 bis > 200 mg/L (Serumkonzentration) |
| Produktnummer: | CRP3020 / CRP3050 |

6. Packungsinhalt

- 20 / 50 Testkarten im Folienbeutel mit Trockenbeutel
- 20 / 50 Glaskapillaren à 5 µL
- 20 / 50 Gefässe mit Blutverdünnungspuffer (je 1 mL)
- 1 Gefäss (blauer Deckel): Waschpuffer (1.5 / 3.75 mL)
- 1 Gefäss (roter Deckel): Gold-Konjugat (1.2 / 2.3 mL)
- 1 Gebrauchsanweisung

7. Lagerung und Haltbarkeit

Die INTEX[®] CRP-Testpackung ist bei 2-8°C zu lagern und kann bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden.

Die Reagenzien einer INTEX[®] CRP-Testpackung sind aufeinander abgestimmt und dürfen nicht mit Reagenzien anderer Packungen ausgetauscht werden.

8. Zusätzlich benötigtes Material

- Mikropipette für 20 µL Volumen und Pipettenspitzen
- Gestell für Blutverdünnungspuffergefässe
- Einweg-Handschuhe

9. Probengewinnung

Der INTEX[®]-CRP Card Test wird mit Humanblut durchgeführt, das mit den in der Arztpraxis üblichen Verfahren gewonnen wird. Für den Test wird ein Volumen von lediglich 5 µL benötigt. Proben in gerinnungshemmenden Gefässen können im Kühlschrank bei 2-8°C bis zu 5 Tagen aufbewahrt werden.

10. Testdurchführung

Vorbereitungsschritte

① Test vorbereiten

Die Testkarten (jeweils 1 Karte pro Probe), Flüssigreagenzien und Analysenproben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-30°C) gebracht werden. Das Gold-Konjugat leicht aufschütteln.

Die Aluminiumverpackung wird aufgerissen, die Testkarte herausgenommen und mit einem wasserfesten Stift beschriftet (z.B. Patientenidentifikation, Probennummer, etc.). Das Testfeld der Karte darf nicht berührt werden. Werden mehrere Tests parallel durchgeführt, so sollten auch die Blutverdünnungspuffergefässe beschriftet werden, um Verwechslungen zu vermeiden.

② Blutverdünnung

Die Analyseprobe wird jeweils 1/200 verdünnt: Das Patientenblut wird mit einer der beiliegenden Glaskapillaren aufgenommen (das Volumen einer total gefüllten Kapillare entspricht 5 µl). Die gefüllte Kapillare wird in eines der mit „Blutverdünnungspuffer“ bezeichneten und 1 mL Lösung enthaltenden Gefässe gegeben. Das Gefäss verschliessen und kräftig mischen. Die verdünnte Lösung muss vor dem Auftragen klar sein (komplette Lyse).

③ Immunreaktion

Von der verdünnten Analyseprobe werden 40 µL in 2 Schritten aufgetragen: Mit Hilfe einer Mikropipette 20 µL Probe auf das Testfeld geben und warten, bis die Flüssigkeit vollständig in das Testfeld eingezogen ist. Danach weitere 20 µL auftragen. Vermeiden Sie Luftblasen auf der Membran.

④ Nachweisreaktion

20 µL Konjugatlösung auf das Testfeld auftragen und warten, bis die Flüssigkeit vollständig in das Testfeld eingezogen ist. Danach weitere 20 µL auftragen.

⑤ Waschschritt

20 µL Waschlösung auftragen und warten, bis die Flüssigkeit vollständig in das Testfeld eingezogen ist. Danach weitere 20 µL auftragen.

11. Auswertung des INTEX[®] -CRP Card Tests

Die Auswertung erfolgt nach dem letzten Waschschritt. Der CRP-Nachweis ist positiv, wenn das Testfeld eine deutliche Rotbraunfärbung aufweist. Proben mit einer CRP-Konzentration unter 10 mg/L erzeugen lediglich eine leichte rosarote Färbung. Die Farbintensität des Testfeldes wird mit Hilfe der aufgedruckten Farbsektoren klassifiziert, wobei die Werte die CRP-Konzentration bezogen auf das Serum angeben. Die Farben sind dabei auf eine Serumkonzentration von Vollblutproben mit einem Hämatokritwert von 40% geeicht.






Wichtig:


- Das Testfeld ist innerhalb einer ½ **Stunde** nach Beendigung des Tests abzulesen. Da sich im Laufe der Zeit Veränderungen in der Färbung ergeben können, sind spätere Ablesungen nicht mehr gültig.

12. Interpretation der Ergebnisse

Ein positives Testergebnis (> 6 mg/L) weist auf eine akute Entzündungsreaktion hin (siehe Abschnitt 2). Der CRP-Spiegel muss immer im Zusammenhang mit der entsprechenden klinischen Symptomatik interpretiert werden. Die Messung des CRP kann die ärztliche Untersuchung nicht ersetzen, sie ist aber eine Methode zur Unterstützung der Diagnosefindung.

13. Symbolerläuterungen

| | | | |
|---|---------------------------------------|---|------------------------|
| REF | Produktnummer |  | nur zum Einmalgebrauch |
| LOT | Chargennummer |  | Verfalldatum |
|  | Lagertemperatur |  | Inhalt |
| IVD | nur für in vitro-diagnostische Zwecke |  | Gebrauchsanweisung |

| | | |
|--|---|------------|
| INTEX[®] -CRP Card Test semi-quantitativ |  | REF |
| | 20 Testkarten | CRP3020 |
| | 50 Testkarten | CRP3050 |



INTEX[®]
Diagnostika

INTEX[®] Pharmazeutica AG

Hofackerstrasse 77
 CH-4132 Muttenz
 Tel. (0041) 61 465 90 70
 Fax (0041) 61 465 90 71
 service.ch@intex-diagnostika.com

INTEX[®] Diagnostika GmbH

Hauptstrasse 435
 DE-79576 Weil am Rhein
 Tel. (0049) 7621 940 90 80
 Fax (0049) 7621 940 90 84
 service@intex-diagnostika.com

IDSAN[®] Kft.

Árpád u. 3/b. fdsz. 1
 HU-1195 Budapest
 Tel. (0036) 1 357 65 98
 Fax (0036) 1 357 65 99
 intex@t-online.hu

www.intex-diagnostika.com

Vertrieb Österreich: Mag. Doskar Pharm. Produkte, Schottenring 14, A-1013 Wien, Tel: (0043) 1 535 37 24-0, Fax: (0043) 1 535 37 24-24