

→REF KST02612TP
KST02612GP

Verwendungszweck

PreventID® CRP 1/3 ist ein semiquantitativer Test zur Bestimmung von hochsensitivem CRP (hsCRP) in Vollblut zur Primärprävention bei KHK-Risikopatienten. Die Sensitivität des Tests liegt bei 1 mg/L.

Einleitung

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein unspezifisches, von Hepatozyten gebildetes Akute-Phase-Protein und gilt als Indikator für akute Verletzungen, bakterielle Infektionen sowie Entzündungen. Daneben haben mehrere Studien gezeigt, dass CRP zusätzlich als Indikator für einen Myokardinfarkt oder andere künftige kardiovaskuläre Erkrankungen (CVD) sowie als Parameter zur Verlaufskontrolle zu sehen ist [1, 2]. Während bei akuten Entzündungen anderer Genese der CRP-Spiegel innerhalb kürzester Zeit (ca. 6 Stunden) um ein Vielfaches ansteigt, aber auch ebenso schnell wieder abfallen kann, sind die – bei Ausschluss einer offensichtlichen Entzündung – leicht erhöhten CRP-Werte, die zur KHK-Prädiktion genutzt werden, dauerhaft erhöht [1]. Entzündungsreaktionen in der Gefäßwand spielen bei der Initiierung, dem Wachstum und der Destabilisierung atherosklerotischer Plaques eine Rolle (Destabilisierung bedeutet Einriss einer Plaque und damit die Gefahr eines Gefäßverschlusses). Atherosklerotische Plaques in den Gefäßwänden gehen mit einem leicht erhöhten CRP-Spiegel einher (Bereich >1 mg/L bis < 10 mg/L). Daher ist CRP als Prädiktor für kardiovaskuläre Erkrankungen zur Primärprävention bei klinisch Gesunden geeignet [4].

„High sensitive CRP“ bedeutet grundsätzlich, dass im normnahen Bereich gemessen wird, also in einem Bereich zwischen 0,5 und 10 mg/L. Der PreventID® CRP 1/3 ermöglicht die Aussage, ob CRP unter 1 mg/L, zwischen 1 und 3 mg/L oder über 3 mg/L liegt. Liegt die ermittelte CRP-Konzentration über 3 mg/L, sollte eine erneute Bestimmung nach 2 bis 3 Wochen erfolgen. Bei wiederholt erhöhtem Wert und nach Ausschluss einer anderen Ursache (akute Infektion, chronisch entzündliche Erkrankungen anderer Genese), ist die ermittelte CRP-Konzentration für die Risikostratifizierung verwertbar [3].

Testprinzip

PreventID® CRP 1/3 ist ein Sandwich-Immunoassay. Der Test enthält einen Nitrocellulose-Membranstreifen mit einem immobilisierten Maus-anti-CRP-Antikörper in der Testlinienregion (T), einem immobilisierten Ziegen-anti-Kaninchen-Antikörper in der Referenzlinienregion (R) als 3 mg/L CRP-semi-quantitativen Referenzmarker, mit einem weiteren immobilisierten Ziegen-anti-Maus-Antikörper in der Kontrolllinienregion (C) plus – auf dem Konjugat-Pad – einem Maus-anti-CRP-Antikörper sowie einem Kaninchen-Antikörper, die mit kolloidalem Gold gekoppelt sind.

Während des Tests reagiert der Analyt (d. h. das CRP-Antigen) im Blut mit dem kolloidalen Gold-konjugierten CRP-Antikörper auf dem Konjugat-Pad und bildet so einen Antikörper-Antigen-kolloidalen Gold-Komplex. Während die Flüssigkeit entlang der Membran läuft, werden auch alle Komplexe und die Konjugate entlang der Membran mittransportiert. Wenn die Komplexe den jeweiligen immobilisierten Maus-Anti-CRP-Antikörper auf der Membran erreichen, werden sie eingefangen und bilden einen Sandwich-Komplex, bestehend aus: immobilisiertem Antikörper, Antigen (Analyt), Antikörper, kolloidalem Gold. Nur wenn die aufgebrauchte Blutprobe eine bestimmte Konzentration an CRP enthält, führt die Bildung dieses Sandwich-Komplexes zu einer sichtbaren violetten Bande bei (T). Die flüssigen kolloidalen Goldkonjugate wandern ebenfalls zu der Referenzlinie und es bildet sich eine Bande von deutlich sichtbarer Intensität bei R (3 mg / l Marker). Die flüssigen kolloidalen Goldkonjugate bewegen sich weiterhin zur Kontrollbereichs-Bande (C) auf der Membran. Dort bildet dieses Konjugat einen Komplex mit dem immobilisierten Anti-Maus-Antikörper, was zur Bildung einer violetten Kontrollbande (C) führt. Dies zeigt an, dass der Test korrekt durchgeführt wurde. Die Intensität der Testlinie (T) wird verwendet, um die CRP-Konzentration in der Blutprobe semi-quantitativ zu bestimmen.

Materialien

Mitgelieferte Materialien

- Testkassetten mit Kapillarpipetten, einzeln verpackt **TEST**
- Fläschchen mit Pufferlösung **BUF**
- Testanleitung

Zusätzlich benötigte Materialien: Alkoholtupfer, Lanzette, Stoppuhr.

Lagerung und Stabilität

Der PreventID® CRP 1/3 sollte bei Raumtemperatur oder gekühlt (4–30 °C) gelagert werden; den Test nicht einfrieren. Die Testkassette ist

empfindlich gegenüber Luftfeuchtigkeit und hohen Temperaturen. Daher soll der Test vor Hitze geschützt und unmittelbar nach dem Öffnen der Verpackung benutzt werden. Den Test nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur *In-vitro*-Diagnostik verwenden.
2. Während der Probenbehandlung nicht essen/rauchen. Möglichst Einweghandschuhe tragen und nach der Testdurchführung stets Hände waschen/desinfizieren.
3. Spritzer und Aerosolbildung vermeiden.
4. Alle verwendeten Materialien und Proben als potentiell infektiös behandeln und den Vorschriften entsprechend entsorgen. Kontaminierte Gegenstände und Oberflächen gründlich reinigen.
5. Stechhilfe nur für eine Person verwenden, da ansonsten die Gefahr einer Infektionsübertragung besteht.
6. Den Test nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist, die Versiegelung geöffnet ist oder die Testkassette erkennbare Schäden aufweist. Haltbarkeitsdatum beachten.
7. Vor Verwendung des Tests die Testanleitung gründlich lesen.
8. Reagenzien mit verschiedenen Chargennummern nicht mischen.
9. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an die Preventis GmbH.

Testdurchführung

1. Testkassette und Kapillarpipette der Verpackung entnehmen und auf eine flache, trockene Oberfläche legen.
2. Zeige- oder Mittelfinger durch Abreiben mit dem Alkoholtupfer reinigen.
3. Mit einer Lanzette in eine Fingerbeere einstechen.
4. Den Finger um die Einstichstelle herum massieren, um den Blutfluss anzuregen. Die Spitze der Kapillarpipette in den Blutstropfen halten. Dabei darauf achten, dass die Kapillarpipette sich etwas unterhalb des Blutstropfens befindet, so dass das Blut automatisch hineinfließt. Die **Kapillarpipette bis zur schwarzen Markierung befüllen** (Abb. 1). Reicht die Blutmenge nicht aus, zur Gewinnung weiteren Bluts nochmals die Fingerbeere in Richtung Einstichstelle massieren.
5. Anschließend die Spitze der Kapillarpipette vertikal über das Probenauftragsfenster der Testkassette halten. Zwei Finger über die Entlüftungsöffnungen der Kapillarpipette legen (auf Höhe der Strichmarkierung; verhindert Luftstrom) und das obere Ende zusammendrücken, um die **Blutprobe (ca. 40 µl) in das Probenauftragsfenster hineinzutropfen** (Abb. 2).

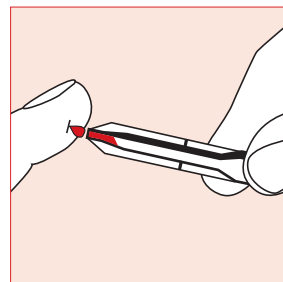


Abb. 1: Befüllen der Kapillarpipette

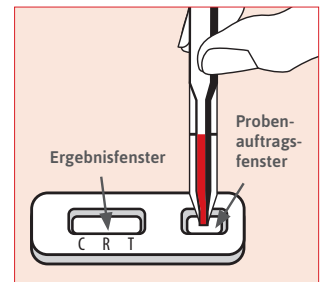


Abb. 2: Auftragen der Blutprobe

Beachten Sie: Ist die Entlüftungsöffnung am oberen Ende der Kapillarpipette nicht vollständig mit einem Finger abgedeckt (nicht dargestellt in Abb. 2!), kann die Blutprobe nicht komplett herausgedrückt werden.

6. Das Fläschchen mit der Pufferlösung öffnen und senkrecht mit der Öffnung nach unten halten (Tropfen dürfen keine Luftblasen enthalten, deshalb das Fläschchen unbedingt vertikal halten). **3–4 Tropfen der Pufferlösung nach und nach** in das Probenauftragsfenster geben. **Achtung:** Den nächsten Tropfen Puffer erst zugeben, wenn der vorherige im Probenauftragsfenster absorbiert ist.
7. Kurz darauf wird eine rote Farbfront sichtbar, die das Ergebnisfenster in der Mitte der Testkassette durchwandert.
8. Das **Testergebnis nach genau 5 Minuten ablesen**. Den Test nie später als nach 7 Minuten auswerten.

Beachten Sie: Die angegebene Interpretationszeit basiert auf einer Auswertung des Tests bei 15–30 °C. Bei Temperaturen unter 15 °C die Testbestandteile vor Testdurchführung auf Raumtemperatur bringen.

Testauswertung

1. Im Ergebnisfenster erscheint auf der linken Seite eine farbige Bande als Kontrolle für den korrekten Testablauf (**C = Kontrollbande**).
2. Im mittleren Bereich des Ergebnisfensters wird eine **Referenzbande (R)** sichtbar.
3. Im rechten Bereich des Ergebnisfensters wird das Testergebnis in Form der **Testbande (T)** sichtbar.

CRP-Konzentration < 1mg/l: Die Kontrollbande (C) und die Referenzbande (R) sind sichtbar. Die Testbande (T) wird nicht sichtbar und zeigt damit an, dass die CRP-Konzentration unterhalb von 1 mg/l liegt (Abb. 3a).

- CRP-Konzentration unter 1,0 mg/l = Niedriges Relatives Risiko für CVD

CRP-Konzentration 1 bis < 3mg/l: Die Kontroll-, die Referenz- und die Testbande sind sichtbar. Die Farbintensität der Testbande (T) ist schwächer als die der Referenzbande (R) und zeigt damit an, dass die CRP-Konzentration zwischen 1 mg/l und 3 mg/l liegt (Abb. 3b).

- CRP-Konzentration zwischen 1,0–3,0 mg/l = Mittleres Relatives Risiko für CVD

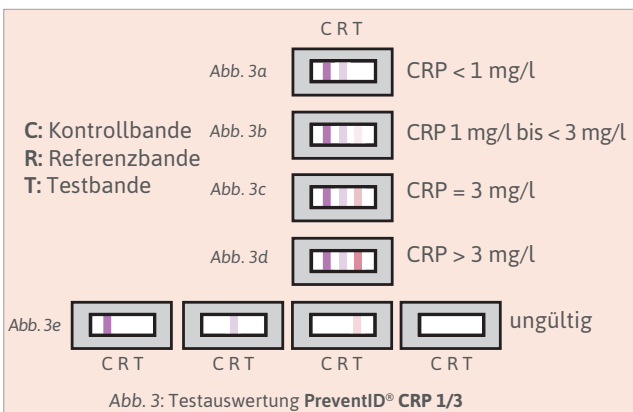
CRP-Konzentration beträgt 3 mg/l: Die Kontroll-, die Referenz- und die Testbande sind sichtbar. Die Farbintensität der Testbande (T) entspricht der Farbintensität der Referenzbande (R) und zeigt damit an, dass die CRP-Konzentration 3 mg/l beträgt (Abb. 3c).

- CRP-Konzentration beträgt 3,0 mg/l = Mittleres Relatives Risiko für CVD

CRP-Konzentration > 3 mg/l: Die Kontroll-, die Referenz- und die Testbande sind sichtbar. Die Farbintensität der Testbande (T) ist stärker als die der Referenzbande (R) und zeigt damit an, dass die CRP-Konzentration über 3 mg/l liegt (Abb. 3d).

- CRP-Konzentration über 3,0 mg/l = Hohes Relatives Risiko für CVD

Ungültig: Wenn nach der Testdurchführung keine Referenz- und Kontrollbande im Ergebnisfenster sichtbar werden, ist der Test ungültig. Ursache ungültiger Ergebnisse aufgrund eines nicht korrekt abgelassenen Tests können z. B. zu geringe in das Probenauftragsfenster eingebrachte Proben- bzw. Puffermengen oder das Überschreiten des Verfallsdatums sein (Abb. 3e).



Beachten Sie: Normalerweise gilt – je höher die CRP-Konzentration in der Probe, umso farbintensiver die Testbande. Sehr hohe CRP-Konzentrationen können jedoch die Farbintensität vermindern und so das Ergebnis verfälschen (sog. Hook-Effekt).

Beachten Sie: Ein nach 5 Minuten festgestelltes positives Ergebnis ändert sich nicht. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse wird jedoch darauf hingewiesen, dass das Testergebnis nicht später als nach 7 Minuten ausgewertet werden darf. Wertet man Testergebnisse erst nach 7 Minuten aus, so ist die Sensitivität des Tests größer als 1 mg/L.

Erhöhte CRP-Werte können auch bei bakteriellen Infektionen oder akuten bzw. chronisch-entzündlichen Infektionen vorliegen. Auch Proben mit hohem Gehalt an Rheumafaktoren können zu einem unspezifisch-positiven Ergebnis führen. Der Test sollte daher nur bei augenscheinlich Gesunden durchgeführt werden.

Testcharakteristika

Die AHA (American Heart Association) und das CDC (Center for Disease Control) definieren das Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis mithilfe des Parameters hs-CRP wie folgt: Konzentrationen von weniger als 1,0 mg/l als geringes Risiko, 1,0–3,0 mg/l als durchschnittliches Risiko und Konzentrationen von mehr als 3,0 mg/l definiert als hohes Risiko.

Sensitivität und Spezifität

Der Test IMAGE 800 von Beckman Coulter wird als Goldstandard zugrunde gelegt für die hs-CRP-Konzentration für die Zwecke dieser Studie. Die **relative Sensitivität** des **PreventID® CRP 1/3** war – je nach Charge – mindestens 97 % für die Konzentration <1 mg/l, 94 % für die hs-CRP-Konzentration zwischen 1 und 3 mg/l und für die Konzentration >3 mg/l 97 % oder mehr.

Spezifitätstests mit verschiedenen Mikroorganismen zeigten keine Interferenz mit dem **PreventID® CRP 1/3**-Test: Alle positiven Proben bleiben positiv, alle negativen Proben bleiben in ihren Bereichen negativ. Potenziell störende chemische Substanzen wie Schmerzmittel, Lipide, Hämoglobin, Bilirubin und Glukose wurden zu klinisch definiertem negativem Normalblut ergänzt. Diese Proben wurden mit dem **PreventID® CRP 1/3** getestet und zeigten ebenfalls keine Störungen.

Diese Daten zeigen: Der **PreventID® CRP 1/3**-Test ist gleichwertig mit dem IMAGE-800 einsetzbar, um das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse zu bestimmen.

Grenzen des Tests

Wird die Testanleitung nicht korrekt befolgt, liefert der Test keine zuverlässigen Ergebnisse. Obwohl der **PreventID® CRP 1/3** das CRP mit hoher Zuverlässigkeit nachweist, kann es im Einzelfall zu falschen Resultaten kommen. Bei fraglichen Ergebnissen sollten weitere klinische Tests durchgeführt werden. Wie bei allen diagnostischen Tests sollte bei einem positiven Ergebnis eine abschließende Befundung nicht aufgrund dieses einzigen Resultats erstellt werden, sondern erst nach der vollständigen Abklärung des Krankheitsbildes durch den Arzt.

Literatur:

1. Ridker et al. (2002) N Engl J Med 347 : 1557-1565
2. Ridker et al. (2000) N Engl J Med 342 : 836-843
3. Rifai N, Ridker PM (2001) Clin Chem 47: 403-411
4. Shah PK (2000) Circulation 101: 1758-59



Stand: 2018-11-21

Temperaturbegrenzung	Hersteller
In-vitro-Diagnostikum	Chargennummer
Bestellnummer	Verwendbar bis
Zu verwenden mit	Nicht zur Wiederverwendung
Gebrauchsanweisung beachten	Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
Vor Hitze (Sonneneinstrahlung) schützen	

Vertrieb durch:

Preventis GmbH
 Stubenwald-Allee 8a
 64625 Bensheim, Germany
 Phone: +49 6251 70711-0
 Fax: +49 6251 70711-25
 info@preventis.com
 www.preventis.com