

Der IDEXX Catalyst® CRP-Test zur praxisinternen Messung der CRP-Konzentration (C-reaktives Protein) beim Hund

Von Graham E. Bilbrough, MA, VetMB, CertVA, MRCVS; Paula W. Lampton, BA, PhD; Matt Wagner, BS; Sheila Corey, BS, MS; Dennis B. DeNicola, DVM, PhD, DACVP

Einführung

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein Akute-Phase-Protein, das zum Nachweis, zur Charakterisierung des Schweregrads und zur Kontrolle von systemischen Entzündungen bei Hunden¹ und Menschen² gemessen wird. Aufgrund der schnellen CRP-Produktion und -Clearance ist dieser Test in Kombination mit einem großen Blutbild gerade bei praxisinternen Messungen ein äußerst nützlicher Indikator für die klinische Situation eines Tieres zum Zeitpunkt der Probengewinnung³.

Interpretation des caninen CRP

Ansteigende CRP-Konzentrationen deuten auf einen zunehmenden Schweregrad der Entzündung hin. CRP-Konzentrationen von über 30,0 mg/l (SI-Einheiten) deuten auf eine klinisch signifikante systemische Entzündung hin.

Die CRP-Konzentration steigt in weniger als 6 Stunden nach Einsetzen einer signifikanten Entzündung beträchtlich an und sinkt rasch wieder ab, sobald die Entzündung abklingt.

Der IDEXX Catalyst® CRP-Test umfasst einen neuen Sandwich-Immunoassay mit Gold-Nanopartikeln, der zur Messung des caninen CRP-Antigens (dynamischer Bereich 1 – 100 mg/l) in Serum- oder Lithiumheparinplasmaproben von Hunden entwickelt wurde. Das CRP-Testplättchen kann ergänzend zu einem Blutchemie-Profil oder als Einzeltest verwendet werden. Es wurde speziell für den schnellen Erhalt von zuverlässigen Befunden in der Veterinärklinik entwickelt.

Dieser Studie lagen folgende Ziele zugrunde:

1. Methodenvergleich zwischen der Bestimmung von CRP-Konzentrationen mittels des Catalyst CRP-Tests (durchgeführt mit den IDEXX Catalyst One® oder Catalyst Dx® Blutchemie- und Elektrolyt-Analysegeräten) und der Bestimmung von CRP-Konzentrationen mittels einer Referenzmethode*, die in veterinärmedizinischen Laboren, einschließlich der IDEXX Labore[†], eingesetzt wird.
2. Präzision des Catalyst CRP-Tests.
3. Auswirkungen von häufig auftretenden interferierenden Substanzen auf die Ergebnisse.

Methodenvergleich

Materialien und Methoden

Serumproben von 82 Hunden, unter denen sowohl Proben von gesunden Tieren als auch von solchen mit schweren entzündlichen Erkrankungen waren, wurden wie folgt analysiert:

1. Referenzmethode: Das Gentian Canine CRP-Reagenzienkit wurde mit einem in Veterinärlaboren[†] verwendeten klinischen Blutchemie- und Elektrolyt-Analysegerät analysiert. Alle Proben wurden zweimal mit der Referenzmethode bestimmt und für den Vergleich wurde die durchschnittliche CRP-Konzentration berechnet.
2. Catalyst CRP-Test: Jede Probe wurde einmal auf jeweils zwei verschiedenen Catalyst One- und Catalyst Dx-Analysegeräten analysiert, sodass insgesamt 4 Vergleichswerte pro Probe zur Verfügung standen. Die Reihenfolge der Analysegeräte wurde nach dem Zufallsprinzip bestimmt. Lediglich bei zwei Proben reichte das Probenvolumen nicht für die Analyse auf allen vier Analysegeräten aus.

Sowohl die Referenzmethode als auch die Catalyst CRP-Assays wurden gemäß den Herstellerangaben durchgeführt. Die Messung auf allen vier Analysegeräten war nach 4 Stunden abgeschlossen.

Die Ergebnisse jedes Catalyst CRP-Testdurchlaufs wurden mit der durchschnittlich bei der Referenzmethode erzielten Konzentration verglichen. Nach der Berechnung des Bestimmtheitsmaßes, der Steigung und der mittleren Abweichung wurden Korrelationskurven erstellt. Das Bestimmtheitsmaß ist eine statistische Größe zur Beurteilung des Verhältnisses zwischen zwei (r^2) oder mehr (R^2) Ereignisreihen. Die Gesamtabweichung lässt sich direkt von der Steigung dieser Korrelationskurve ableiten. So deuten beispielsweise r^2 gleich eins und Steigung gleich eins auf eine perfekte Korrelation ohne Abweichung hin.

Ergebnisse

Die Ergebnisse wurden in Tabelle 1 und Abbildung 1 zusammengefasst.

	Catalyst One	Catalyst Dx
Beobachtungen	162	161
r^2	0,96	0,97
Steigung	0,98	0,98
Achsenabschnitt (mg/l)	0,6	0,7
Mittlere Abweichung (mg/l) im Bereich 1 – 100 mg/l	-0,2	0,0

Tabelle 1. Zusammenfassung der Ergebnisse aus dem Vergleich zwischen der Referenzmethode und dem Catalyst CRP-Test

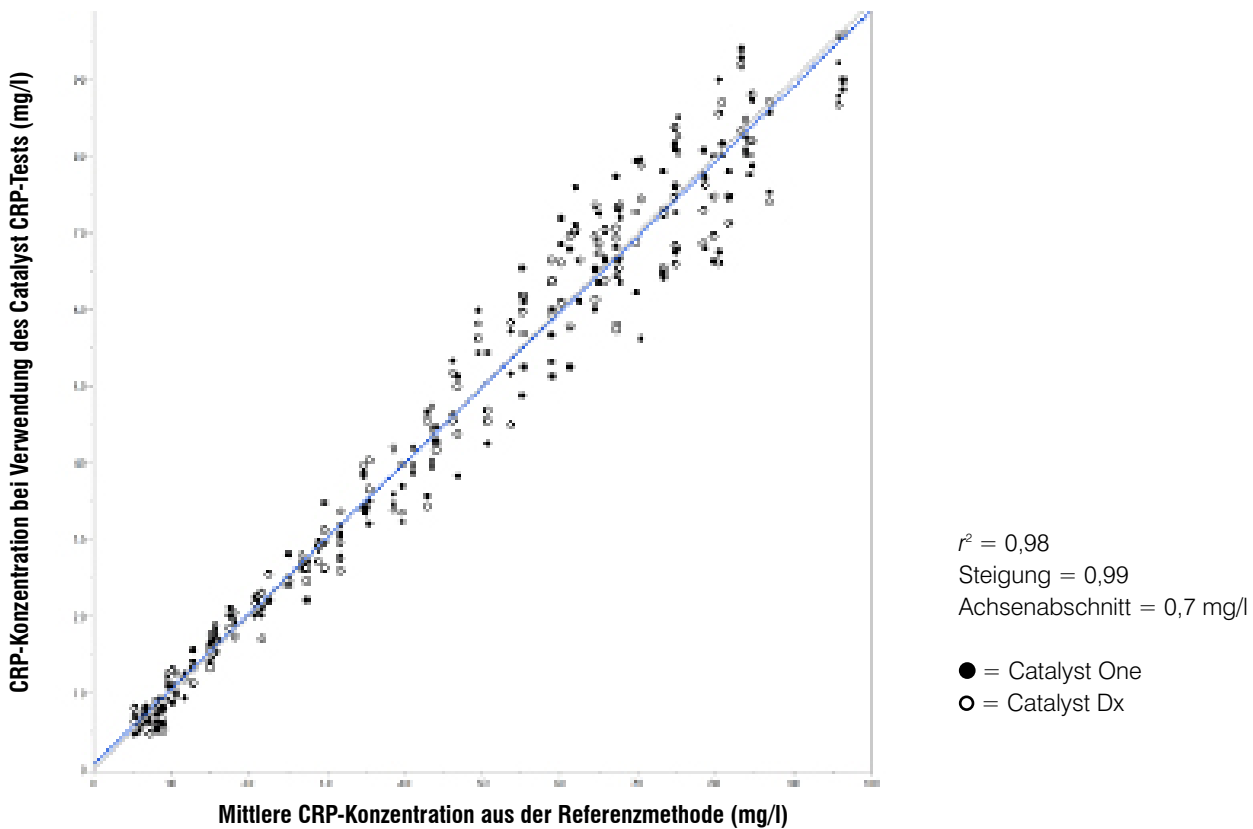


Abbildung 1: Korrelationsdiagramm der paarweisen Vergleiche (n = 323; 162 mit Catalyst One-Analysegeräten und 161 mit Catalyst Dx-Analysegeräten) der mit zwei verschiedenen Assays gemessenen CRP-Konzentrationen in Hundeproben. Die Ausgleichsgerade (lineare Regression) der Daten wird im Korrelationsdiagramm (blaue Linie) mittels Steigung und Bestimmtheitsmaß (r^2) angegeben. $X = Y$ wird als graue Linie dargestellt.

Präzision

Materialien und Methoden

Die Präzision wurde anhand von zwei Kontrollflüssigkeiten mit verschiedenen Konzentrationen beurteilt: Es wurden zwei Catalyst Dx[®] und zwei Catalyst One[®] Blutchemie- und Elektrolyt-Analysegeräte beurteilt, mit denen beide Kontrollflüssigkeiten jeweils 10 Tage lang achtmal täglich analysiert wurden. Insgesamt wurde jede Flüssigkeit 80 Mal mit jedem Gerät analysiert, sodass insgesamt 160 Durchläufe mit den Catalyst One-Analysegeräten und 160 Durchläufe mit den Catalyst Dx-Analysegeräten erzeugt wurden.

Der beobachtete Variationskoeffizient (%VK) wurde berechnet und anschließend mit den in den Richtlinien der ASVCP beschriebenen Qualitätsanforderungen bezüglich der gesamtzulässigen Fehler verglichen⁴:

- Empfohlener wünschenswerter analytischer VK für CRP (VK_{des}): 12,16 %
- Empfohlener akzeptabler analytischer Mindest-VK für CRP (VK_{min}): 18,24 %

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt. Die mit den Catalyst Dx- und Catalyst One-Analysegeräten erreichte Präzision liegt weit über den in den Richtlinien der ASVCP aufgeführten Angaben zum wünschenswerten analytischen VK.

	Kontrollflüssigkeit	Mittlere Konzentration (mg/l)	%VK
Catalyst Dx	1	31	6,9
	2	76	7,6
Catalyst One	1	32	7,0
	2	79	6,8

Tabelle 2. Zusammenfassung der Ergebnisse aus der Präzisionsstudie.
%VK = Variationskoeffizient

Studie zu den interferierenden Substanzen

Materialien und Methoden

Interferenzen aufgrund des Vorhandenseins von Hämoglobin, Lipiden oder Bilirubin wurden gemäß den CLSI-Richtlinien EP07-A2 beurteilt.⁵ Hierzu wurden Serumproben von Hunden, in denen keine interferierenden Substanzen erkennbar waren, gewonnen und gepoolt. Mögliche Auswirkungen einer Hämolyse, Lipämie oder Ikterus wurden mittels Erythrozyten-Hämolyse von Hunden, Intralipid[®] und Ditaurobilirubin[†] untersucht. Daraufhin wurden Aliquote der gepoolten Probe präpariert und mit verschiedenen Konzentrationen der interferierenden Substanzen versetzt (siehe Tabelle 3). Jedes Aliquot wurde anschließend zweimal mit einem Catalyst Dx[®]- und zweimal mit einem Catalyst One[®]-Analysegerät analysiert.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in Tabelle 3. Es gab minimale und klinisch unbedeutende Interferenzen durch Hämolyse, Lipämie, und Ikterus.

Hämolyse		Lipämie		Ikterus	
Hämoglobin-Konzentration (mg/dL)	Mittlere CRP-Konzentration (mg/dL)	Intralipid-Konzentration (mg/dL)	Mittlere CRP-Konzentration (mg/dL)	Ditaurobilirubin-Konzentration (mg/dL)	Mittlere CRP-Konzentration (mg/dL)
Nicht dotiert	1,7	Nicht dotiert	1,7	Nicht dotiert	1,7
32	1,6	125	1,7	1,25	1,7
68	1,7	250	1,6	2,5	1,8
125	1,6	500	1,6	5	1,7
250	1,7	1.000	1,7	10	1,8
375	1,7			15	1,8
500	1,6			20	1,7

Tabelle 3. Zusammenfassung der Ergebnisse aus der Studie zu den interferierenden Substanzen (in konventionellen Einheiten angegeben). Jedes Aliquot wurde unter Verwendung des Catalyst CRP-Tests zweimal mit einem Catalyst Dx-Analysegerät und zweimal mit einem Catalyst One-Analysegerät gemessen. Die mittlere CRP-Konzentration aus den vier Replikaten ist abgebildet.

Schlussfolgerung

Der neue Catalyst[®] CRP-Test ermöglicht eine präzise Quantifizierung des caninen CRP bei der praxisinternen Analyse. Es lagen minimale Interferenzen durch Hämolyse, Lipämie und Ikterus vor. Dieser Test wies eine hervorragende Korrelation ($r^2 = 0,98$) zur Referenzmethode sowie eine minimale Abweichung (Steigung von 0,99) auf.

*Für die Referenzmethode wurde das Gentian Canine CRP-Reagenzienkit (Ref 1501; Gentian AS, Moss, Norwegen) verwendet, das mit dem Olympus AU400 Blutchemie- und Elektrolyt-Analysegerät (Beckman Coulter, Nyon, Schweiz) analysiert wurde.

†Alle IDEXX Labore, die selbst (ohne dritte Referenzlabore) CRP-Analysen unter Verwendung des Gentian Canine CRP-Reagenzienkits durchführen. Hierzu zählen auch die IDEXX Labore in Japan und Europa.

‡In Kochsalzlösung gewaschenes und mit Triton™ X-100 Surfactant lysierte Erythrozyten.

§Intralipid (Sigma, St. Louis, MO, USA) mit Phospholipid stabilisiertes Sojabohnenöl.

*Bilirubin-Konjugat (Scripps Laboratories, San Diego, CA, USA; Katalognummer B0114) synthetisches Ditaurobilirubin.

Literaturnachweise

1. Ceron JJ, Eckersall PD, Martı́nez-Subiela S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Vet Clin Pathol.* 2005;34(2):85–99.
2. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003;111(12):1805–1812.
3. Caspi D, Baltz ML, Snel F, et al. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. *Immunology.* 1984;53(2):307–313.
4. Harr KE, Flatland B, Nabity MB, Freeman KP. *Richtlinien der ASVCP: Allowable Total Error—Biochemistry*; zugelassene Version 1.0. Madison, WI: American Society for Veterinary Clinical Pathology; 2013. www.asvcp.org/about/committees/pdf/ASVCP_Allowable_Total_Error_Recommendations-Biochemistry.pdf. Veröffentlicht im März 2013. Zugriff am 20. April 2017.
5. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry; zugelassene Richtlinie*. 2. Fassung; Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. CLSI-Dokument EP07-A2.

Technischer Kundendienst von IDEXX

Österreich 43 (0)1 206 092 729

Deutschland 49 (0)69 153 253 290

Italien 39 02 87 10 36 76

Luxemburg 352 (0)34 20 80 87 22



111446-00-S.I.-DE