

Methodenvergleich zwischen Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay und Liquid-Phase-Immunopräzipitationsassay in der Bestimmung des C-reaktiven Proteins

Comparison of a Fluorescence-Polarization-Immunoassay (FPIA) and a Liquid-Phase-Immunoprecipitation-Assay in the Determination of C-reactive Protein

F. Ploner, M. Ogriseg

Laboratorium Krankenhaus Brixen/Südtirol

Zusammenfassung:

2 CRP-Bestimmungsmethoden (ein Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay und ein Liquid-Phase-Immunopräzipitationsassay) wurden anhand von 60 Patientenserum mit einer CRP-Konzentration bis zu 360 mg/l miteinander verglichen. Bei beiden Methoden zeigte sich eine akzeptable Richtigkeit und eine gute Präzision: 40 Seren mit einer niedrigen CRP-Konzentration (zwischen 3,0 und 50 mg/l) wiesen eine gute Korrelation ($r = 0,8959$) aber eine große analytische Streuung auf; bei 20 Seren mit einer hohen CRP-Konzentration (zwischen 50 und 360 mg/l) war die Korrelation gut ($r = 0,9890$). Beide Methoden werden unter verschiedenen Gesichtspunkten diskutiert.

Schlüsselwörter:

CRP-Methodenvergleich – Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay – Liquid-Phase-Immunopräzipitationsassay

Summary:

2 CRP-determination methods (a fluorescence-polarisation-immunoassay and a liquid-phase-immunoprecipitation-assay) were carried out in 60 patient sera with a CRP-concentration up to 360 mg/l. Both compared methods showed good precision and acceptable: 40 sera with low CRP concentrations between 3.0 and 50 mg/l showed a good correlation ($r = 0.8959$) but a high analytical scattering; in 20 sera with high CRP concentrations between 50 and 360 mg/l the correlation was excellent ($r = 0.9890$). We discuss the two methods under different points of view.

Keywords:

Method Comparison of C-reactive Protein – Fluorescence-Polarization-Immunoassay – Liquid-Phase-Immunoprecipitation-Assay

Einleitung

Das C-reaktive Protein (CRP) ist jenes Akute-Phase-Protein des Blutes, das bei entzündlichen Prozessen und bei größerem Gewebsuntergang relativ rasch im Serum ansteigt (1). Der große Vorteil gegenüber der Blutsenkungsgeschwindigkeit (BKS) liegt darin, daß es bereits 6 bis 12 Stunden nach dem Akuten Ereignis (Beginn des entzündlichen Prozesses bzw. Erkrankung mit Zellschaden oder Zelluntergang) erhöhte Werte aufweist (2, 3). Des Weiteren beträgt die biologische Halbwertszeit des CRP im Serum nur 2 bis 4 Stunden (BKS: mehrere Tage); somit spiegelt die CRP-Konzentration im Serum die aktuelle klinische Situation besser wider. Deshalb wird in zunehmendem Maße der quantitativen CRP-Bestimmung sowohl in der Routine- als auch in der Notfalldiagnostik der Vorzug vor der qualitativen Bestimmung (meist mittels Latex-Tests) und der BKS gegeben. Dadurch kann eine bessere und aktuellere Diagnostik und Verlaufskontrolle bei bakteriellen Infekten, aseptischen Nekrosen und malignen Erkrankungen gewährleistet werden (4–8).

Ziel unserer Untersuchung war ein Methodenvergleich bezüglich der quantitativen CRP-Bestimmung zwischen dem Turbox-CRP-Assay der Firma Orion Diagnostica mit der FPIA-Methode am Tdx-System der Firma Abbott mit spezieller Blickrichtung auf die Notfalltauglichkeit der beiden Methoden.

Material und Methoden

Der Orion Diagnostica Turbox-Assay für das CRP ist ein Liquid-Phase-Immunopräzipitations-Assay mit nephelometrischer Endpunktbestimmung (9, 10). Das lyophilisierte CRP-Antiserum wird im vorhandenen gebrauchsfertigen Puffer gelöst; bei Aufbewahrung bei 2–8 °C beträgt die Haltbarkeit ein Jahr. Der Probenansatz erfolgt manuell, eine Vorverdünnung des Serums ist nicht notwendig. Die Ablesung erfolgt manuell nach der fixen Inkubationszeit von 30 Minuten gegen einen Probenleerwert. Zur Ablesung wird das Orion-Turbox-Nephelometer verwendet; vor jeder Analysenserie wird eine reagenz- und chargenspezifische Magnetkarte eingelesen, auf welcher auch die Standardkurve fix eingespeichert ist (die somit nur über externe Kontrollmaterialien auf ihre Richtigkeit hin überprüfbar ist). Mittels einem der Reagenzpackung beigelegten Standard wird bei jeder Serie eine „Einpunktkalibration“ durchgeführt: weicht das Ergebnis um mehr als 5 % vom Sollwert ab, wird die „Kalibration“ nicht akzeptiert; die Serie muß neu angesetzt werden.

Für das Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (10–12) am Analysengerät Tdx der Fa. Abbott liegen die Reagenzien in gebrauchsfertigem Zustand vor, unbehandeltes Serum wird eingesetzt. Der Testablauf erfolgt vollautomatisch. Die Methode wird mittels 6 Standards, die humanes CRP mit den Konzentrationen 0, 40, 80, 120, 180 und

Tab. 1: Präzision und Richtigkeit der FPIA-Methode

Sollwert:	Probe L (Abbott) 30 (26–35) mg/l		Probe H (Abbott) 150 (135–165)		CRP-Behring 27 (23–31)	
	x ± SD	CV (%)	x ± SD	CV (%)	x ± SD	CV (%)
intra-assay	28,5 ± 1,1	3,82	147,1 ± 2,0	1,36	26,1 ± 1,5	5,61
inter-assay	29,7 ± 1,6	5,21	147,0 ± 5,5	3,71	26,3 ± 2,1	8,05

Tab. 2: Präzision und Richtigkeit des Liquid-Phase-Präzipitations-Immunoassay

Sollwert:	Probe L (Abbott) 30 (26–35) mg/l		Probe H (Abbott) 150 (135–165)		CRP-Behring 27 (23–31)	
	x ± SD	CV (%)	x ± SD	CV (%)	x ± SD	CV (%)
intra-assay	28,3 ± 1,5	5,15	157,7 ± 11,1	7,04	26,3 ± 1,5	3,92
inter-assay	29,1 ± 2,2	7,56	153,6 ± 14,0	9,15	26,7 ± 2,0	7,64

Tab. 3: Vergleich FPIA mit Turbox

Patientenseren mit CRP-Konzentrationen zwischen:			
		3,0–50 mg/l	50–360 mg/l
Anzahl:	n	40	20
Korr. Koeff.:	r	0,8959	0,9890
Regression:	y	1,10x – 0,03	1,15x – 0,34

360 mg/l enthalten, eingeeicht; die Standardkurve wird im Rechner gespeichert. Die zur Qualitätssicherung verwendeten Kontrollproben L und H (mit den Konzentrationen 30 [26–35] und 150 [135–165] mg/l) bestehen ebenfalls aus humanen CRP in Protein stabilisatoren.

Der Vergleich zwischen den beiden Methoden erfolgte anhand 40 Patientenseren mit einer niedrigen CRP-Konzentration (zwischen 2,0 und 50 mg/l) sowie 20 Seren mit einer hohen CRP-Konzentration zwischen 50 und 360 mg/l. Die Bestimmung der Präzision in der Serie und von Tag zu Tag wurde mit 2 Kontrollseren L (low) und H (high) der Fa. Abbott sowie eines CRP-Kontrollserums der Fa. Behring durchgeführt.

Es wurden die linearen Regressionsgeraden, die Korrelationskoeffizienten und die Standardabweichungen berechnet und beurteilt.

Ergebnisse

Kontrolle der FPIA-Methode

Die Richtigkeit und die Präzision in der Serie wurde durch die Bestimmung von 15 CRP-Kontrollseren L und H der Fa. Abbott sowie das Kontrollserum der Fa. Behring geprüft. Die Präzision von Tag zu Tag wurde durch dieselben Kontrollseren bei jeder Analysenserie (n = 20) untersucht. Die ermittelten Daten sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Kontrolle des Liquid-Phase-Immunopräzipitationsassay

Die Qualitätskontrolle wurde mit denselben Kontrollmaterialien und unter denselben Bedingungen wie oben beschrieben durchgeführt. Die erhobenen Werte sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Ergebnisse des Vergleiches der Patientenproben.

Die Ergebnisse sind in den Abb. 1 und 2 sowie in Tabelle 3 zusammengefasst. Im Bereich zwischen 10 und 25 mg/l

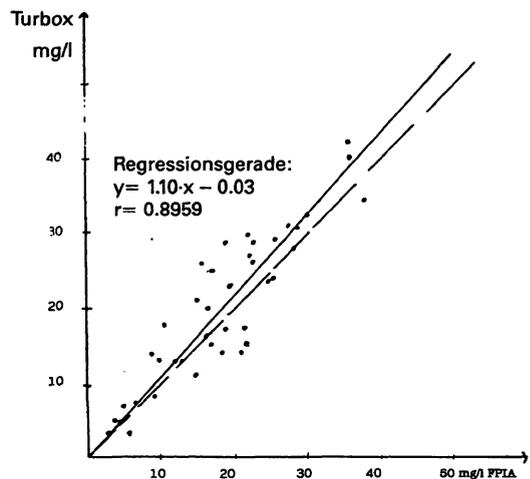


Abb. 1: Graphische Darstellung der Ergebnisse der mit dem Turbox-Orion und mit dem TDX-Abbott bestimmten CRP-Konzentrationen in den 40 Patientenseren mit einer CRP-Konzentration 3,0–50,0 mg/l

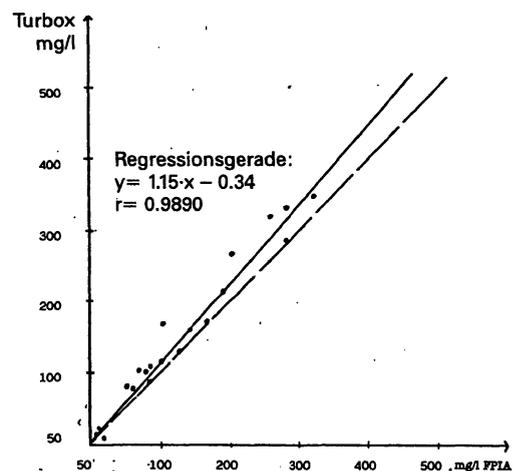


Abb. 2: Graphische Darstellung der Ergebnisse der mit dem Turbox-Orion und mit dem TDX-Abbott bestimmten CRP-Konzentrationen in den 20 Patientenseren mit einer CRP-Konzentration 50,0–360,0 mg/l

ist die methodische Streuung erheblich, trotz eines annehmbaren Korrelationskoeffizienten. Im Konzentrationsbereich über 50 mg/l zeigen beide Methoden eine bessere Vergleichbarkeit.

Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, daß eine akzeptable Übereinstimmung der Werte nur im hohen Konzentrationsbereich vorliegt. Die unteren Nachweisgrenzen liegen bei beiden Methoden bei 3 mg/l. Die FPIA-Methode zeichnet sich gegenüber der Turbox-Methode im niedrigen Konzentrationsbereich durch eine höhere Meßgenauigkeit aus. Als Ursache hierfür kommt höchstwahrscheinlich die fehlende Vollautomatisierung des Turbox-Systems (Notwendigkeit mehrerer manueller Pipettierschritte in der Probenvorbereitung) in Frage. Dieser relative Nachteil wird allerdings durch einen wesentlich günstigeren Kostenaufwand kompensiert: er ist für die FPIA-Methode circa dreimal so hoch wie für die Turbox-Methode.

Die Art der Standardisierung der Turbox-Methode hat Vor- und Nachteile: als Nachteil muß die Tatsache gewertet werden, daß der Benutzer bei der Eineichung der Methode sich ausschließlich auf die chargenspezifische Magnetkarte verlassen muß und keinen Einblick in den Verlauf der Eichkurve gewinnen kann. Von Vorteil ist jedoch, daß für die Eineichung der Methode keine direkten Reagenzien- und kaum Personalkosten anfallen.

Beide Methoden können, trotz der schlechten Vergleichbarkeit im Bereich von 10–25 mg/l, für die klinische Routinediagnostik empfohlen werden. Das TDx-System eignet sich besser für Notfälle, da das Ergebnis bereits nach 10 Minuten ohne Probenvorbereitung und ohne manuelle Pipettierungen vorliegt, während für das Turbox-System mindestens 30 Minuten veranschlagt werden müssen. Der Hauptvorteil des Turbox-Systems liegt in seinen niedrigen Kosten; somit eignet sich dieses System besser für kleinere Laboratorien und solche Zentren, in denen wenige Notfälle anfallen.

Schrifttum:

1. CLAUS, D. R., OSMOND, A. P., GEWURZ, H.: Radioimmunoassay of human C-reactive protein and levels in normal sera. *J. Lab. Clin. Med.* 87, 120–128 (1976).
2. PELTOLA, H., RAESAENEN, J. A.: Quantitative C-reactive protein in relation to erythrocyte sedimentation rate, fever and duration of antimicrobial therapy in bacteriemic diseases of childhood. *H. Inf.* 5, 257–267 (1982).
3. PELTOLA, H., HOLMBERG, C.: Rapidity of C-reactive protein (CRP) in detecting potential septicemia. *Pediatr. Infect. Dis.* 25, 374–376 (1983).
4. PANTANO, E., PISANI, M., DETACO, M.: Quantitative immunoassay of C-reactive protein in the postoperative period for the early diagnosis and evaluation of complications. *La. Ric. Clin. Lab.* 10, 281–287 (1980).
5. PELTOLA, H.: C-reactive protein for rapid monitoring of infections of the central nervous system. *Lancet*, 980–983 (1982).
6. SABEL, K. G., WADSWORTH, C.: C-reactive protein (CRP) in early diagnosis of neonatal septicemia. *Acta. Paediatr. Scand.* 68, 825–831 (1979).
7. WARD, A. N., COPPER, E. M.: Acute phase proteins in the staging and monitoring of malignancy. *La. Ric. Clin. Lab., Suppl.* 1, 49, 321–336 (1978).
8. MCCARTHY, P. L., FRANK, A. J., ABLow, R. C., MASTER, S. J., DOLAN, T. F.: Value of the C-reactive protein test in the differentiation of bacterial and viral pneumonia. *J. Pediatr.* 92, 454–456 (1978).
9. STERNBERG, J. C.: A rate nephelometer for measuring specific proteins by immunoprecipitation reaction. *Clin. Chem.* 23, 1456 (1977).
10. LIAPPIS, N., JAECKEL, A.: Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP) im Serum mit Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (FPIA) – Vergleich mit der Methode der kinetischen Nephelometrie (KNM). *Klin. Paediatr.*, 198 (1986).
11. DANDLIKER, W. B., FEIGEN, G. A.: Quantification of the antigen-antibody reaction by polarization of fluorescence. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 5, 299 (1961).
12. GONZALEZ BUETRAGO, M., et al.: Clinical evaluation of a fluorescence polarization immunoassay for quantifying C-reactive protein. *Clin. Chemistry* 34, 595 (1988).

Anschrift des Verfassers:

Dr. Franz Ploner
Laboratorium f. klin. chem. und mikrobiol. Analysen
Provinzialkrankenhaus Brixen
I-39042 Brixen
Südtirol/Italien



Die Creatinin-Methode mit Referenz-Niveau:

Neuentwicklung



Creatinin-Duo

Hier die Fakten:

- gute Übereinstimmung mit Referenzmethode
- spezifisch, mit GLDH-UV-Reaktion
- keine falschen Werte bei Problemseren wie bei Jaffè – Bilirubin, Hämolyse, Ketonkörper, u.a. Cephalosporin, stören nicht –
- keine aggressiven Reagenzien, daher geräteschonend und ohne Störungen auf andere Methoden im Selektivbetrieb
- kostengünstig

100 Jahre Jaffè sind genug!



BIOMED

BIOMED Labordiagnostik GmbH
Bruckmannring 28 · 8042 Oberschleißheim
Telefon (089) 3151618 · Telex 5216278
Service-Telefon (089) 3151619
Telefax (089) 3153242