IDEXX Catalyst Bile Acids k ambulatnímu stanovení celkové koncentrace žlučových kyselin u psů a koček

Autor: Elizabeth Schooley, DVM, MS, DACVIM; a Eric Steva, BS

Úvod

Měření celkové koncentrace žlučových kyselin se používá k vyhodnocení funkce jater na základě účinnosti enterohepatální cirkulace, která může být ovlivněna parenchymálním onemocněním jater, vaskulárními anomáliemi (např. portosystémovými zkraty) a cholestatickým onemocněním jater.[1,2] Zvýšenou senzitivitu a specificitu vyšetření lze dosáhnout stanovením koncentrace žlučových kyselin před a dvě hodiny po nakrmení pacienta.

Test IDEXX Catalyst® Bile Acids je navržen tak, aby umožnil měření koncentrace žlučových kyselin ze séra nebo plazmy s heparinátem lithným (nebo z plné krve pomocí separátoru že umožňuje s heparinátem lithným) u psů a koček. Test je připraven v podobě, která poskytuje široký rozsah měření (1–180 µmol/l) a dává šanci získat spolehlivé a přesné výsledky žlučových kyselin ve veterinární praxi.

Cílem této studie bylo vyhodnotit:

- Možnosti testu Catalyst Bile Acids porovnáním metody s referenční metodou* používanou ve veterinárních referenčních laboratořích;
- Přesnost testu pomocí kontrolních tekutin;
- Vliv běžných interferujících látek (hemolýza, lipémie a ikterus) na výsledky;
- Odchylku měření žlučových kyselin mezi sérem a plazmou u testu Catalyst Bile Acids.

Porovnání metod

Materiály a metody

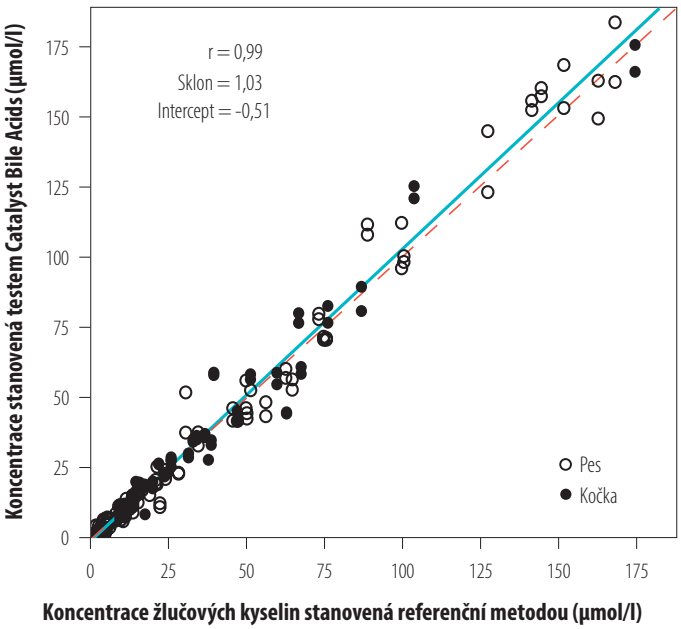
Vzorky séra od 70 psů a 29 koček byly analyzovány následovně:

1. Referenční metoda: Test Diazyme Total Bile Acids Assay* (cyklická enzymatická metoda) prováděný na biochemickém analyzátoru používaném v referenčních laboratořích IDEXX. Vzorky byly analyzovány dvakrát referenční metodou a pro porovnání byla vypočtena průměrná koncentrace žlučových kyselin.
2. Test Catalyst Bile Acids: Každý vzorek byl analyzován jednou na jednom biochemickém analyzátoru Catalyst One® a na jednom biochemickém analyzátoru Catalyst Dx®, čímž byla získána celkem dvě srovnání na vzorek. Analyzátory byly použity v náhodném pořadí.

Jak referenční metoda, tak testy Catalyst Bile Acids byly provedeny podle specifikací výrobců. Výsledky z každého testu Catalyst Bile Acids byly porovnány s průměrnou koncentrací získanou referenční metodou. Byly vyneseny korelační grafy s výpočtem r a sklonu. Sklon v této korelaci přímo určuje celkovou odchylku a r je statistická technika, která vyhodnocuje vztah mezi dvěma řadami událostí. V tomto kontextu koeficient r roven jedné a sklon se stejnou hodnotou tvoří perfektní korelaci s nulovou odchylkou.

Výsledky

Výsledky srovnávací studie metod jsou shrnuty na obrázku 1.



Obrázek 1: Korelační graf párových srovnání koncentrací žlučových kyselin v psích a kočičích vzorcích – hodnoty naměřené těmito dvěma testy. V grafu je zobrazena přímka nejlepší shody (lineární regrese) údajů se sklonem a hodnotou r (plná čára). Rovnost x = y je v grafu znázorněna přerušovanou čarou.

Přesnost

Materiály a metody

Přesnost byla hodnocena pomocí kontrolní tekutiny při třech koncentracích žlučových kyselin. Všechny koncentrace byly hodnoceny osmkrát denně po dobu 10 dnů na každém ze dvou chemických analyzátorů Catalyst One® a dvou analyzátorů Catalyst Dx®. Nakonec byla vypočtena průměrná koncentrace a standardní odchylka.

Výsledky

Výsledky studie přesnosti jsou shrnuty v tabulce 1.

	Průměrná koncentrace (µmol/l)	Směrodatná odchylka (µmol/l)
Analyzátor Catalyst Dx	9,7	1,4
	22,2	1,6
	78,9	3,1
Analyzátor Catalyst One	11,0	1,3
	22,2	1,6
	76,7	2,7

Tabulka 1: Souhrn výsledků ze studie přesnosti.

Studie interferujících látek

Materiály a metody

Interference způsobená přítomností hemoglobinu, lipidů nebo bilirubinu byla hodnocena podle pokynů pro metodu CLSI EP07-A2.[3] Vzorky psí plazmy, které viditelně neobsahovaly interferující látky, byly odebrány, smíchány a obohaceny žlučovými kyselinami. K vyšetření potencionálních změn způsobených hemolýzou, lipémií a ikterem byl použit hemolyzát červených krvinek psů[†], Intralipid®[‡] a ditaurobilirubin[§]. Poměrné části směsného vzorku byly připraveny a obohaceny různými koncentracemi interferujících látek (uvedených v tabulce 2). Každá poměrná část byla poté analyzována buď dvakrát (hemolýza), nebo jednou (lipémie, ikterus), na každém ze 4 analyzátorů Catalyst One.

Výsledky

Výsledky studie interferujících látek jsou uvedeny v tabulce 2. U lipemických vzorků nebyla pozorována žádná interference. Interference vedoucí ke zvýšeným výsledkům žlučových kyselin mohou být pozorovány ve vzorcích se střední až značnou hemolýzou (≥250 mg/dl) a v iktérických vzorcích.

Hemolýza		Lipémie		Ikterus	
Koncentrace hemoglobinu (mg/dl)	Průměrná koncentrace žlučových kyselin (µmol/l)	Koncentrace intralipidu® (mg/dl)	Průměrná koncentrace žlučových kyselin (µmol/l)	Koncentrace ditaurobilirubinu (mg/dl)	Průměrná koncentrace žlučových kyselin (µmol/l)
Bez obohacení	27,4	Bez obohacení	27,5	Bez obohacení	26,1
128	31,6	62,5	26,8	3,72	28,1
250	34,7	125	27,1	7,14	29,1
385	37,3	250	27,3	14,97	32,2
497	41,2	500	27,4	23,43	33,6

Tabulka 2: Souhrn výsledků studie interferujících látek.

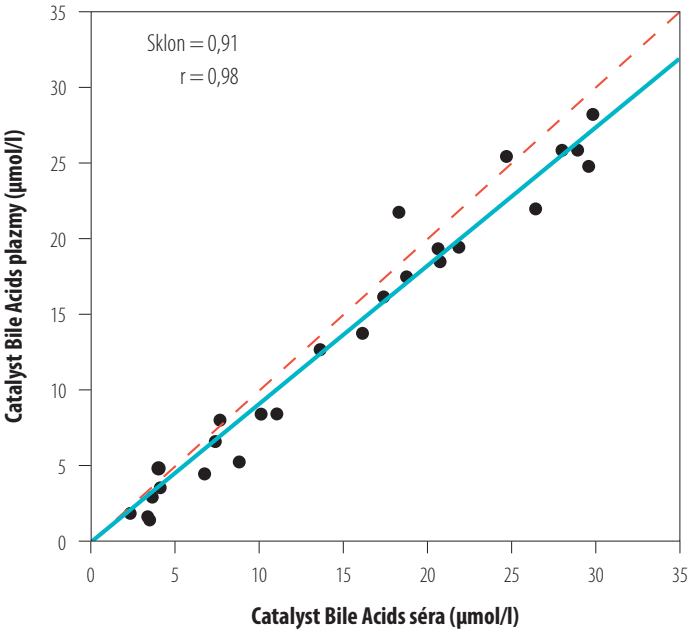
Odchylka mezi sérem a plazmou

Materiály a metody

Vzorky plné krve odebrané od 26 psů byly obohaceny žlučovými kyselinami, rozděleny a zpracovávány buď jako sérum, nebo plazma. Pak byl proveden test Catalyst Bile Acids na vzorcích séra i plazmy. Regresní graf byl vynesen párováním výsledků pro sérum na ose x a výsledků pro plazmu na ose y.

Výsledky

Výsledky jsou shrnuty na obrázku 2 a vykazují dobrou korelaci a minimální odchylku mezi vzorky séra a plazmy.



Obrázek 2: Korelační graf párových srovnání žlučových kyselin ve vzorcích psí plazmy a séra (n = 26). V grafu je zobrazena přímka nejlepší shody (lineární regrese) údajů se sklonem a hodnotou r (plná čára). Rovnost x = y je v grafu znázorněna přerušovanou čarou.

Závěr

Test prokazuje vynikající korelaci s metodou Diazyme Total Bile Acids, s minimální odchylkou (r = 0,99; sklon = 1,03). Výsledky Catalyst Bile Acids mohou být ovlivněny vzorky se střední až značnou hladinou hemolýzy nebo ikteru. V klinických podmínkách platí, že, pokud je koncentrace bilirubinu zvýšena nebo pokud je zvíře ikterické, nemá velký smysl provádět test žlučových kyselin jakoukoliv metodikou, protože se očekává, že se žlučové kyseliny zvýší v případě, že je přítomna hyperbilirubinémie spojená s hepatobiliárním onemocněním.[2]

Catalyst® Bile Acids poskytuje veterinářům možnost ambulantního vyšetření s přesnými výsledky při hodnocení hepatobiliárních onemocnění u psů a koček.

Reference

1. Cocker S, Richter K. Diagnostic evaluation of the liver. V: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, eds. Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and Cat. 8. vyd. Louis, MO: Elsevier; 2017:1611–1621.
2. Stockham SL, Scott MA. Liver function. V: Stockham SL, Scott MA. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2. vyd. Ames, IA: Blackwell; 2008:675–706.
3. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – 2. vydání. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. CLSI document EP07-A2.

*Referenční metoda se skládala z testovací soupravy Diazyme Total Bile Acids (metoda založená na enzymatické reakci) (Diazyme Laboratories, Inc. Poway, Kalifornie, USA; katalogové číslo: DZ042A) a prováděla se na analyzátoru Beckman Coulter AU5800 (Beckman Coulter, Brea, Kalifornie, USA).

†Lyzát z psích červených krvinek promytý ve fyziologickém roztoku a lyzovaný ve vodě bez přídavku povrchově aktivní látky.

‡Intralipid® (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA), sójový olej stabilizovaný fosfolipidy.

§Konjugát bilirubinu (Scripps Laboratories, San Diego, Kalifornie, USA; katalogové číslo: B0114), syntetizovaný ditaurobilirubin.

© 2020 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena. • 2252367-01
Všechny obchodní značky (TM) a registrované ochranné známky (®) jsou majetkem společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích přidružených společností v USA a/nebo dalších zemích. Zásady ochrany osobních údajů společnosti IDEXX jsou k dispozici na webu idexx.com.