IDEXX Catalyst CRB testas C reaktyvinio baltymo (CRB) koncentracijos šunų serume nustatymui vietoje (in-house)

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

Įvadas

C reaktyvinis baltymas (CRB) yra ūmios fazės baltymas, kurio pagalba šunims[1] ir žmonėms[2] nustatomas sisteminis uždegimas, jo sunkumas bei galimas uždegimo monitoravimas. Dėka greitos CRB gamybos bei jo sumažėjimo, šis tyrimas itin naudingas, kartu su bendru kraujo tyrimu (BKT) parodantis klinikinę gyvūno situaciją mėginio paėmimo metu,[3] ypač atliekant vietoje (in-house).

Šunų CRB interpretavimas

Didėjanti CRB koncentracija rodo sunkėjantį uždegimą. CRB koncentracija, didesnė nei 3,0 mg/dl (SI vienetai: 30,0 mg/l) nurodo kliniškai reikšmingą sisteminį uždegimą.

CRB koncentracija ženkliai padidėja greičiau nei per 6 valandas nuo reikšmingo uždegimo pradžios bei greitai sumažėja rimstant uždegiminiam procesui.

IDEXX Catalyst® CRB testą sudaro nauja daugiasluoksnė imunologinė analizė su aukso nanodalelėmis, kuri sukurta šunų CRB antigeno nustatymui (0,1-10 mg/dl; 1-100 mg/l) serume arba ličio heparino plazmos mėginiuose. CRB gali būti įtrauktas į cheminę analizę arba atliekamas kaip atskiras tyrimas. Jis sukurtas tam, kad veterinarijos klinikoje būtų gaunami greiti ir patikimi testo rezultatai.

Šio tyrimo tikslai:

1. Metodų palyginimas, nustatant CRB koncentracijas naudojant Catalyst CRP testą (naudojant arba IDEXX Catalyst One®, arba Catalyst Dx® analizatorių) bei nustatant CRB koncentracijas naudojant standartinį metodą*, naudotą standartinių veterinarijos laboratorijų, tame tarpe ir standartinių IDEXX laboratorijų.
2. Išsiaiškinti Catalyst CRB testo tikslumą.
3. Išsiaiškinti dažniausių trukdančių medžiagų įtaką rezultatams.

Metodų palyginimas

Medžiaga ir metodika

Analizuoti 82 šunų, tiek sveikų gyvūnų, tiek ir žymia uždegimine liga sergančių pacientų, serumo mėginiai, taikant šiuos metodus:

1. Standartinis metodas: Gentian Canine CRP reagentų komplektas tirtas klinikiniu cheminiu analizatoriumi, naudojamu standartinėse veterinarinėse laboratorijose.1 Visi mėginiai dukart analizuoti standartiniu metodu, palyginimui apskaičiuota vidutinė CRB koncentracija.
2. Catalyst CRB testas: kad būtų gauti 4 kiekvieno mėginio palyginimai, kiekvienas mėginys buvo analizuojamas dviem Catalyst One analizatoriais bei dviem Catalyst Dx analizatoriais. Tik dviejų mėginių kiekis buvo per mažas, kad užtektų visiems keturiems analizatoriams.

Tiek standartinis metodas, tiek ir Catalyst CRB tyrimai buvo atlikti pagal gamintojo specifikacijas. Analizė visais keturiais analizatoriais buvo atlikta per 4 valandas.

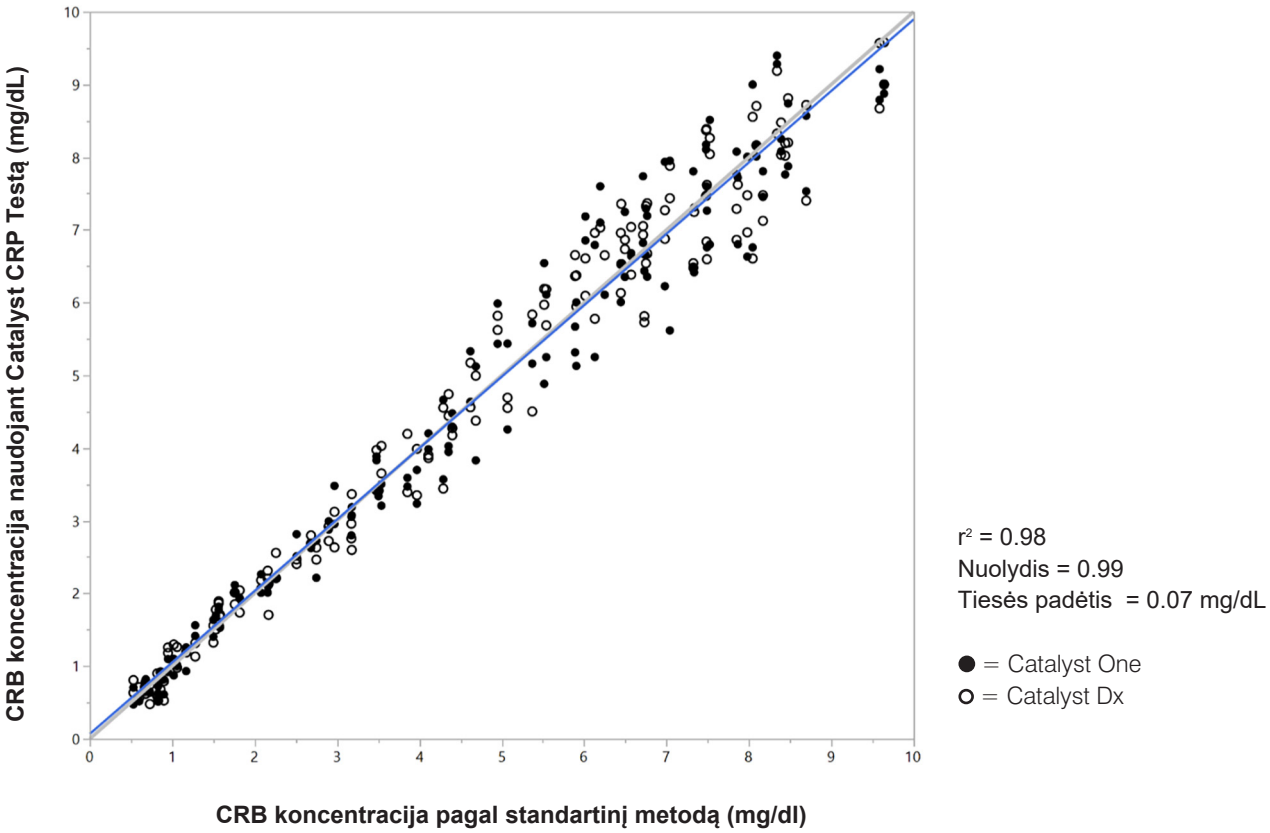
Kiekvieno Catalyst CRP testo rezultatai palyginti su vidutine koncentracija, apskaičiuota taikant standartinį metodą. Koreliacijos grafikai sudaryti apskaičiavus R kvadratą, nuolydį bei vidutinę paklaidą. R kvadratas yra statistinis metodas, vertinantis ryšį tarp dviejų (r^2) arba daugiau (R^2) įvykių serijų. Šios koreliacijos nuolydis tiesiogiai rodo apie bendrą paklaidą. Šiame kontekste, vieneto r^2 ir vieneto nuolydis yra tobula koreliacija su nuline paklaida.

Rezultatai

Rezultatų santrauka pateikta 1 lentelėje bei 1 paveiksle.

	Catalyst One	Catalyst Dx
Stebėjimai	162	161
r^2	0.96	0.97
Nuolydis	0.98	0.98
Tiesės padėtis (mg/dL)	0.06	0.07
Vidutinė paklaida (mg/dl) 0,10-10,00 mg/dl intervale	-0.02	0.00

1 lentelė. Standartinio metodo bei Catalyst CRB testo palyginimo rezultatų santrauka



1 pav.: CRB koncentracijų šunų mėginiuose, vertintų dviem analizatoriais, porinių palyginimų koreliacijos grafikas (n = 323; 162 Catalyst One analizatoriai ir 161 Catalyst Dx analizatoriai). Grafike parodyta geriausio duomenų atitikimo (linijinė regresija) linija (mėlyna linija), nuolydis bei R kvadratas (r^2). X = Y parodyta pilka linija.

Tikslumas

Medžiaga ir metodika

Vertinant tikslumą naudoti du kontroliniai skysčiai: kontrolinis skystis 1 ir kontrolinis skystis 2. Du Catalyst Dx® ir du Catalyst One® cheminiai analizatoriai buvo vertinami naudojant abu skysčius po aštuonis kartus per dieną 10 dienų laiko. Kiekvienas skystis buvo analizuojamas po 80 kartų su kiekvienu analizatoriumi, iš viso gauta 160 kartotinių mėginių Catalyst One analizatoriumi bei 160 kartotinių mėginių Catalyst Dx analizatoriumi.
Procentinis variacijos koeficientas (%CV) apskaičiuotas ir palygintas dėl leistinai bendros klaidos su kokybinėmis specifikacijomis, detaliai nurodytomis ASVCP gairėse:[4]

- Rekomenduojamas pageidautinas analitinis CRB CV (CV_{des}): 12,16%
- Rekomenduojamas minimalus priimtinas analitinis CRB CV (CV_{min}): 18,24%

Rezultatai

Rezultatai pateikti 2 lentelėje. Tiek Catalyst Dx, tiek Catalyst One analizatoriais stebėtas tikslumas buvo kur kas geresnis nei ASVCP gairėse nurodytas pageidautinas analitinis CV.

	Kontrolinis skystis	Vidutinė koncentracija (mg/dl)	%CV
Catalyst Dx	1	3.1	6.9
	2	7.6	7.6
Catalyst One	1	3.2	7.0
	2	7.9	6.8

2 lentelė. Tikslumo tyrimo rezultatų santrauka.
%CV = procentinis variacijos koeficientas

Trukdančių medžiagų tyrimas

Medžiaga ir metodika

Trikdžiai, keliami hemoglobino, lipidų arba bilirubino buvimo, vertinti pagal CLSI EP07-A2 metodo gaires.[5] Buvo renkami ir kaupiami šunų serumo mėginiai, neturintys trikdžių. Šunų raudonųjų kraujo kūnelių hemolizatas,‡ Intralipid®§ ir ditaurobllirubln¶ naudoti tiriant galimą hemolizės, lipemijos ir geltos įtaką. Sukauptų mėginių bandiniai paruošti ir sumaišyti su įvairioms trukdančių medžiagų (kaip parodyta 3 lentelėje) koncentracijomis. Kiekvienas mėginys analizuotas po du kartus Catalyst Dx® analizatoriumi ir po du kartus Catalyst One® analizatoriumi.

Rezultatai

Rezultatai pateikti 3 lentelėje. Nustatyti minimalūs ir kliniškai nereikšmingi hemolizės, lipemijos bei geltos trikdžiai

Hemolizė		Lipemija		Ikterija	
Hemoglobino koncentracija (mg/dl)	Vidutinė CRB koncentracija (mg/dl)	Intralipidinė koncentracija (mg/dL)	Vidutinė CRB koncentracija (mg/dl)	Ditaurobilirubino koncentracija (mg/dl)	Vidutinė CRB koncentracija (mg/dl)
Nėra pakilimo	1.7	Nėra pakilimo	1.7	Nėra pakilimo	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

3 lentelė. Trukdančių medžiagų tyrimo rezultatų santrauka. Kiekvienas mėginys vertintas naudojant Catalyst CRB testą, du kartus Catalyst Dx analizatoriumi ir dukart Catalyst One analizatoriumi. Parodyta keturių kartotinių mėginių vidutinė CRB koncentracija.

Išvada

Naujasis Catalyst® CRB testas suteikia tikslų kiekybinį šuns CRB vertinimą vietoje (in-house). Buvo minimalūs hemolizės, lipemijos ir geltos trikdžiai. Nustatyta labai gera koreliacija (r2 = 0,98) su standartiniu metodu ir minimali paklaida (nuolydis 0,99).

*Standartinį metodą sudaro Gentian Canine CRP reagentų komplektas (ref 1501; Gentian AS, Moss, Norvegija), kuris buvo naudotas su Olympus AU400 cheminiu analizatoriumi (Beckman Coulter, Nyon, Šveicarija).
† Visos standartinės IDEXX laboratorijos, tiriančios CRB be kreipimosi į trečiųjų šalių standartines laboratorijas, naudoja Gentian Canine CRP reagentų komplektą. Tai galioja standartinėse IDEXX laboratorijose Japonijoje ir Europoje.
‡ Lizatas iš šuns raudonųjų kraujo kūnelių, išplautų fiziologiniu tirpalu ir lizuotų vandenyje naudojant paviršinio aktyvumo medžiagą Triton™ X-100.
§Intralipidas (Sigma, St. Louis, MO, JAV), fosfolipidais stabilizuotas sojų pupelių aliejus.
¶Bilirubino konjugatas (Scripps Laboratories, San Diego, CA, JAV; katalogo numeris B0114), sintetinis ditaurobilirubinas.

Nuorodos

1. Ceron JJ, Eckersall PD, Martýnez-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. *ASVCP Guidelines*: *Allowable Total Error—Biochemistry*; approved 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. Published March 2013. Accessed April 20, 2017.
5. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline*. 2nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. CLSI document EP07-A2.

© 2017 IDEXX Laboratories, Inc. All rights reserved. • 111446-00
Catalyst, Catalyst Dx, and Catalyst One are trademarks or registered trademarks of IDEXX Laboratories, Inc. or its affiliates in the United States and/or other countries. All other product and company names and logos are trademarks or registered trademarks of their respective holders.