

IDEXX Catalyst Bile Acids per la valutazione in clinica degli acidi biliari in cani e gatti



Di Elizabeth Schooley, DVM, MS, DACVIM; ed Eric Steva, BS

Introduzione

Si utilizza la misurazione degli acidi biliari per valutare la funzionalità epatica stimando l'efficienza della circolazione enteroepatica. Quest'ultima viene influenzata da patologie del parenchima epatico, anomalie vascolari (ad esempio, shunt portosistemici) e da patologie epatiche con colestasi.^{1,2} Un miglioramento della sensibilità e specificità viene ottenuto misurando le concentrazioni degli acidi biliari a digiuno e due ore dopo un pasto.

Il test IDEXX Catalyst® Bile Acids (Acidi biliari) è stato ideato per consentire la misurazione della concentrazione degli acidi biliari nel siero o nel plasma con litio eparina (o nel sangue intero usando il separatore di sangue intero con litio eparina) in cani e gatti. Il test è in grado di misurare un'ampio intervallo di valori (1–180 $\mu\text{mol/l}$) e consente risultati affidabili e precisi degli acidi biliari per la clinica veterinaria.

Gli obiettivi del presente studio erano quelli di valutare:

- Le prestazioni di Catalyst Bile Acids mediante comparazione con il metodo di riferimento* utilizzato nei laboratori veterinari di referenza.
- La valutazione della precisione del test mediante fluidi di controllo.
- L'influenza di possibili fattori interferenti (emolisi, lipemia e ittero) sui risultati riportati.
- Le variazioni delle misurazioni degli acidi biliari tra siero e plasma tramite Catalyst Bile Acids.

Confronto dei metodi

Materiali e metodi

I campioni di siero di 70 cani e 29 gatti sono stati analizzati come segue:

1. Metodo di riferimento: Test di Total Bile Acids (Acidi biliari totali) di Diazyme* (metodo ciclico enzimatico) eseguito sull'analizzatore chimico utilizzato nei laboratori di riferimento IDEXX. I campioni sono stati analizzati due volte con il metodo di riferimento e la concentrazione media di acidi biliari è stata calcolata.
2. Test Catalyst Bile Acids: ogni campione è stato analizzato una volta su un analizzatore biochimico Catalyst One® e una volta su un analizzatore biochimico Catalyst Dx® per un massimo di due confronti per campione. Gli analizzatori sono stati utilizzati in ordine casuale.

Sia il metodo di riferimento che i test su Catalyst Bile Acids sono stati eseguiti secondo le specifiche del produttore. I risultati di ciascun test Catalyst Bile Acids eseguito sono stati confrontati con la concentrazione media ottenuta con il metodo di riferimento. Sono stati creati grafici di correlazione con il calcolo di r e pendenza. La pendenza di questa correlazione si riferisce direttamente alla distorsione generale, ed r è una tecnica statistica che valuta la correlazione tra due serie di eventi. In questo contesto, un r di uno e una pendenza di uno indicano una perfetta correlazione con distorsione zero.

Risultati

I risultati dello studio di confronto dei metodi sono riassunti nella figura 1.

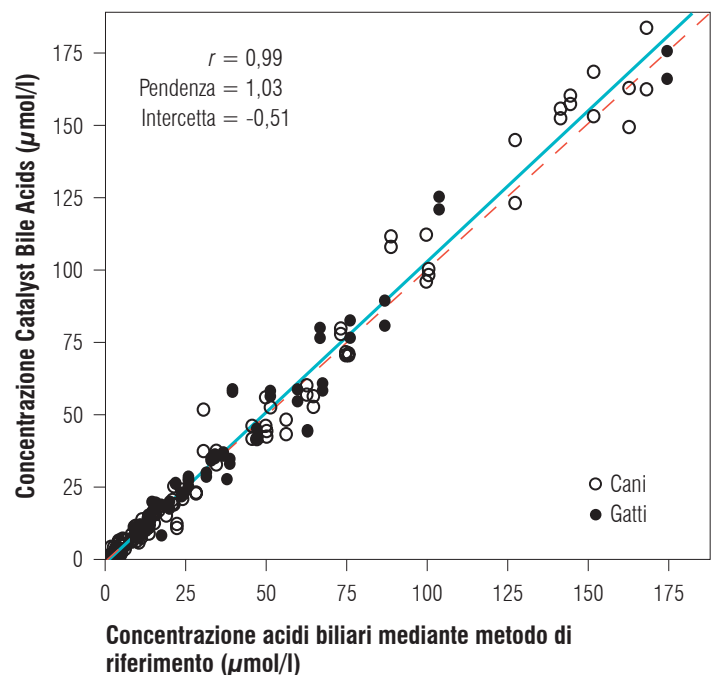


Figura 1: Grafico di correlazione dei confronti a coppie per gli acidi biliari nei campioni di cani e gatti misurati dai due test. La linea di adattamento ottimale (regressione lineare) per i dati viene mostrata nel grafico (linea continua) con la pendenza e il valore r . $x = y$ viene mostrato come una linea tratteggiata nel grafico.

Precisione

Materiali e metodi

La precisione è stata valutata utilizzando campione di controllo con tre diverse concentrazioni di acidi biliari. Tutte le concentrazioni sono state valutate otto volte al giorno per 10 giorni su ciascuno dei due analizzatori biochimici Catalyst One® e dei due analizzatori biochimici Catalyst Dx®. Sono state calcolate la concentrazione media e la deviazione standard.

Risultati

I risultati dello studio di precisione sono riassunti nella tabella 1.

	Concentrazione media ($\mu\text{mol/l}$)	Deviazione standard ($\mu\text{mol/l}$)
Analizzatore Catalyst Dx	9,7	1,4
	22,2	1,6
	78,9	3,1
Analizzatore Catalyst One	11,0	1,3
	22,2	1,6
	76,7	2,7

Tabella 1: Sintesi dei risultati provenienti dallo studio di precisione.

Studio sulle sostanze interferenti

Materiali e metodi

L'interferenza causata dalla presenza di emoglobina, lipidi o bilirubina è stata valutata secondo le linee guida del metodo CLSI EP07-A2.³ I campioni di plasma canino, che erano visibilmente liberi da sostanze interferenti, sono stati raccolti, uniti e miscelati con acidi biliari. Emolisato di globuli rossi canini[†], Intralipid^{®††} e ditaurobilirubina[§] sono stati utilizzati per esaminare il potenziale impatto rispettivamente di emolisi, lipemia e ittero. Aliquote dei campioni l'impidi sono state preparate e miscelate con concentrazioni variabili delle sostanze interferenti (come mostrato

nella Tabella 2). Ogni aliquota è stata quindi analizzata due volte (emolisi) o una volta (lipemia, ittero) su ciascuno dei 4 analizzatori Catalyst One.

Risultati

I risultati dello studio sulle sostanze interferenti sono indicati nella tabella 2. Nei campioni lipemici non è stata osservata alcuna interferenza. È possibile osservare interferenze che determinano un aumento dei risultati degli acidi biliari nei campioni con emolisi da moderata a marcata (≥ 250 mg/dl) e nei campioni itterici.

Emolisi		Lipemia		Ittero	
Concentrazione di emoglobina (mg/dl)	Concentrazione media di acidi biliari ($\mu\text{mol/l}$)	Concentrazione di Intralipidi [®] (mg/dl)	Concentrazione media di acidi biliari ($\mu\text{mol/l}$)	Concentrazione di ditaurobilirubina (mg/l)	Concentrazione media di acidi biliari ($\mu\text{mol/l}$)
Non miscelato	27,4	Non miscelato	27,5	Non miscelato	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

Tabella 2: Sintesi dei risultati dello studio sulle sostanze interferenti.

Variazioni da siero a plasma

Materiali e metodi

Campioni di sangue intero da 26 cani sono stati miscelati con acidi biliari, separati, e processati come siero o plasma. Il test Catalyst Bile Acids è stato quindi eseguito sui campioni di siero e plasma. È stato elaborato un diagramma di regressione abbinando i risultati del siero sull'asse x e i risultati del plasma sull'asse y.

Risultati

I risultati sono riassunti nella figura 2 e mostrano una buona correlazione e una distorsione minima tra i campioni di siero e di plasma.

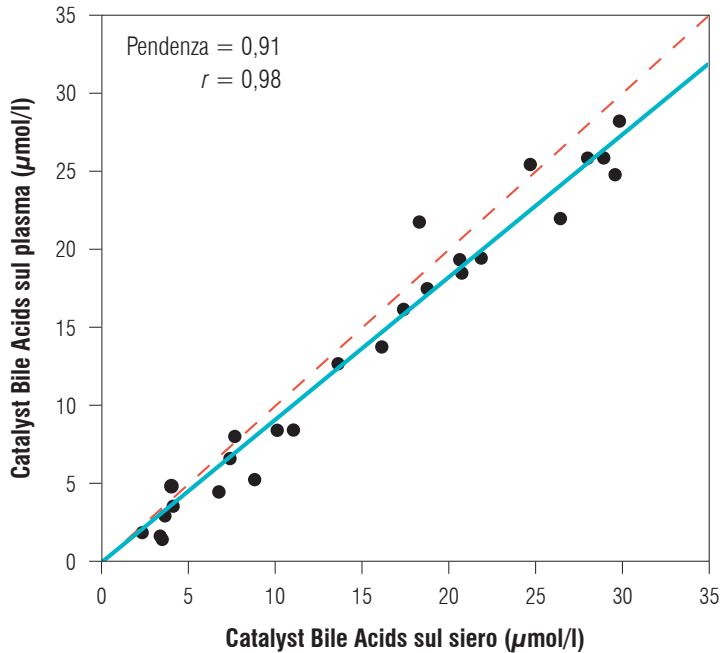


Figura 2: Grafico di correlazione dei confronti accoppiati per acidi biliari in campioni di plasma e di siero canini (n = 26). La linea di adattamento ottimale (regressione lineare) per i dati è mostrata sul grafico (linea continua) con la pendenza e il valore r. x = y viene mostrato come una linea tratteggiata nel grafico.

Conclusioni

Il test dimostra un'eccellente correlazione con il metodo Total Bile Acids (Acidi Biliari Totali) di Diazyme con distorsione minima ($r = 0,99$; pendenza = 1,03). I risultati di Catalyst Bile Acids possono essere influenzati da campioni con livelli di emolisi o ittero da moderati a marcati. A livello clinico, se la concentrazione di bilirubina è elevata o se l'animale è itterico, il test degli acidi biliari costituisce un valore aggiunto rispetto agli altri parametri biochimici, poiché gli acidi biliari saranno più elevati quando è presente iperbilirubinemia associata a malattia epatobiliare.²

Catalyst® Bile Acids rappresentano un'opzione accurata e precisa nella valutazione della malattia epatobiliare in cani e gatti.

Bibliografia

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

*Il metodo di riferimento consisteva nel kit di analisi degli Acidi biliari totali di Dyazyme (metodo ciclico enzimatico) (Dyazyme Laboratories, Inc. Poway, California, USA; numero di catalogo: DZ042A) eseguito su AU5800 Beckman Coulter (Beckman Coulter, Brea, California, USA).

[†]Usato da globuli rossi canini lavato in soluzione fisiologica e lisato in acqua senza tensioattivo.

[‡]Intralipid® (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA), un olio di soia stabilizzato con fosfolipidi.

[§]Bilirubina coniugata (Scripps Laboratories, San Diego, California, Stati Uniti; numero catalogo B0114), una ditaurobilirubina sintetizzata.