

Validación analítica de técnicas comerciales para la determinación de haptoglobina, proteína C reactiva y amiloide A sérico en caninos

Analytical validation of commercial assays for the determination of haptoglobin, C-reactive protein and serum amyloid A in dogs

S Martínez-Subiela¹,* J J Cerón¹.

SUMMARY

All laboratory tests must be validated before being introduced for patient testing. The objective of this work was to perform the analytical validation of three commercial assays that are being used at our laboratory for the determination of haptoglobin (Hp), C reactive protein (CRP) and serum amyloid A (SAA) in canine samples with low and high concentrations of these acute phase proteins (APPs). The parameters evaluated for the validation of the methods were: (1) Precision, assessed by determination of the within and between-run coefficients of variation (CVs). (2) Inaccuracy, evaluated indirectly by investigating linearity under dilution. (3) Limit of detection, determined as the lowest concentration of the APPs which could be distinguished from a zero sample.

All within-run CVs were lower than 10%, however between-run CVs were lower than 10% only for Hp. Dilution of a serum sample with high concentrations of the different APPs resulted in a linear regression equation with correlation coefficient $R^2 > 0.98$ in all cases; so all methods showed a good accuracy. The detection limit of each assay was 0.02 g/L for Hp, 0.15 mg/L for CRP and 0.79 mg/L for SAA. Additionally they differentiate animals with inflammatory or infectious diseases from healthy subjects. Overall results of validation showed that the assays tested can be suitable for the routine measurement of APPs in canine samples, although it would be desirable to reduce the between run imprecision found for CRP and SAA assays.

Palabras clave: validación, haptoglobina, proteína C reactiva, amiloide A sérico, perro.

Key words: validation, haptoglobin, C reactive protein, serum amyloid A, dog.

INTRODUCCION

Para poder utilizar adecuadamente un análisis laboratorial e interpretar los resultados obtenidos de forma correcta, es necesario que las técnicas sean validadas antes de ser empleadas de forma rutinaria en un laboratorio (Lumsden 2000). De esta forma, podrá asegurarse que los valores obtenidos cumplen los requerimientos clínicos que se pretenden con una esperada fiabilidad.

Las proteínas de fase aguda (PFAs) se producen en respuesta a una variedad de condiciones patológicas tales como infección, inflamación o trauma y han demostrado tener una importante aplicación práctica en el diagnóstico, pronóstico y monitorización de tratamientos de numerosos procesos patológicos que afectan a distintas especies (Martínez-Subiela y col 2001). En la especie canina serán de gran utilidad para evaluar el estado de salud de los animales, habiéndose afirmado incluso que en el futuro las PFAs serán incluidas como un parámetro de rutina en los perfiles bioquímicos que se realicen a los animales (Eckersall 2004).

Las investigaciones realizadas en el campo de las PFAs han llevado al desarrollo de diferentes métodos de análisis

e incluso de kits comerciales. Así, en la actualidad, se dispone de kits comerciales para la determinación de la haptoglobina, proteína C reactiva y amiloide A sérico en muestras de la especie canina.

El objetivo del presente trabajo fue el validar tres técnicas para determinar estas PFAs en el laboratorio de Patología Clínica del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia para evaluar el grado de error esperado debido a la inexactitud e imprecisión y la capacidad de discriminación entre animales sanos y con diversas patologías.

MATERIAL Y METODOS

ANALISIS DE PROTEINAS DE FASE AGUDA

Haptoglobina (Hp). Para la determinación de esta proteína se utilizó el kit comercial Phase Haptoglobin® (Tri-delta Development Limited, Ireland), realizando las determinaciones por duplicado en el autoanalizador de bioquímica Cobas Mira Plus (ABX diagnostic Montpelier, Francia).

Se trata de un ensayo colorimétrico basado en la determinación de la actividad peroxidasa de los complejos haptoglobina-hemoglobina a pH ácido que fue desarrollado por Eckersall y col (1999). Los procedimientos analíticos realizados por el autoanalizador pueden resumirse de la

Aceptado: 30.11.04.

¹* Departamento de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, 30100 Espinardo, Murcia, España.