

Catalyst™ Cortisol: dokładne i wiarygodne narzędzie do oceny poziomu kortyzolu u psów w Twoim gabinecie.

Wstęp

Niedoczynność kory nadnerczy i zespół Cushinga (hiperkortyzolemia) to stosunkowo rzadkie zaburzenia endokrynologiczne u psów, niemniej poprawna diagnostyka i skuteczne leczenie są bardzo istotne¹⁻⁴. W przypadku niedoczynności kory nadnerczy wczesna interwencja może uratować życie, a odpowiednie leczenie zespołu Cushinga może znacząco poprawić jakość życia pacjenta i zmniejszyć obciążenie opiekuna.

Chociaż oznaczenia kortyzolu wykonywane w lecznicy (POC) są dostępne już od jakiegoś czasu, większość lekarzy korzysta z usług komercyjnych laboratoriów weterynaryjnych ze względu na konieczność uzyskania wysokiej dokładności i precyzji analizy⁵. Jednak test dostępny w gabinecie, zapewniający dokładność na poziomie laboratorium referencyjnego oferowałby szereg korzyści klinicznych. Na przykład: pojedyncze badanie podstawowego poziomu kortyzolu przy wyniku wynoszącym $\geq 2,00 \mu\text{g/dl}$ ($55,2 \text{ nmol/l}$) pozwala nam na wykluczenie niedoczynności kory nadnerczy u psów, u których zauważono sugestywne objawy kliniczne lub zmiany kliniczno-patologiczne, takie jak przewlekłe problemy trawienne, ostre wymioty lub biegunka, hipoalbuminemia albo zaburzenia równowagi elektrolitowej⁶⁻⁹.

Dostęp do wiarygodnych wyników oznaczenia kortyzolu w trakcie wizyty umożliwia szybką, bezpośrednią komunikację z właścicielami zwierząt. Pomaga to nie tylko we wspólnym podejmowaniu decyzji, ale może również poprawić zrozumienie sytuacji przez klienta i przestrzeganie przez niego zaleceń dotyczących diagnostyki i leczenia.

W tym badaniu oceniono skuteczność analityczną nowatorskiego testu immunoenzymatycznego (POC), Catalyst™ Cortisol, służącego do ilościowego oznaczania poziomu kortyzolu w surowicy psów.

Materiały i metody

Porównanie metod

Porównawcze badanie metod przeprowadzono w celu oceny dokładności Catalyst Cortisol w warunkach klinicznych, wykorzystując 705 próbek surowicy lub osocza psów pobranych pierwotnie w celach klinicznych. Próbkę tę poddano analizie przy użyciu analizatorów biochemicznych Catalyst zainstalowanych w 18 gabinetach weterynaryjnych na terenie Stanów Zjednoczonych. Pozostałą surowicę od każdego pacjenta przesłano do laboratorium IDEXX, gdzie zmierzono stężenie kortyzolu przy użyciu testu IMMULITE™ Veterinary Cortisol* i systemu immunologicznego IMMULITE™ 2000. Za standard referencyjny do porównania posłużyła średnia z dwóch powtórzeń testu IMMULITE Veterinary Cortisol.

Korelację (R) i odchylenie między Catalyst Cortisol a metodą referencyjną oceniano przy użyciu regresji Passinga-Babloka. Wszystkie analizy porównawcze metod przeprowadzono zgodnie z wytycznymi CLSI EP09c¹⁰.

Precyzja

Precyzję analityczną oceniano przy użyciu zbiorczych próbek surowicy psów przy trzech stężeniach kortyzolu, jak przedstawiono w tabeli 1. Testy wykonywano przez 10 kolejnych dni na dwóch analizatorach biochemicznych Catalyst Dx™ i dwóch Catalyst One™. Każdego dnia wykonywano cztery powtórzenia pomiarów za pomocą każdego analizatora, zarówno rano, jak i po południu, aby ocenić zmienność dobową i zmienność pomiędzy dniami. Wszystkie analizy precyzji przeprowadzono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3¹¹.

Reaktywność krzyżowa

Zrozumienie reaktywności krzyżowej przeciwiał z innymi hormonami steroidowymi jest kluczowe przy ocenie oznaczeń kortyzolu, ponieważ reaktywność krzyżowa może wpływać na kliniczną użyteczność testu. Aby to ocenić, zbiorcze próbki surowicy psów o dwóch stężeniach kortyzolu [$2,10 \mu\text{g/dl}$ ($57,9 \text{ nmol/l}$) i $25,00 \mu\text{g/dl}$ ($689,7 \text{ nmol/l}$)] podzielono na porcje i dodano do nich 13 naturalnie występujących hormonów steroidowych i powszechnie stosowanych kortykosteroidów (tabela 2). Każdą próbkę z dodatkiem hormonów analizowano w 12 powtórzeniach przy użyciu analizatorów biochemicznych Catalyst, a wartości średnie wykorzystano do obliczenia procentowej reaktywności krzyżowej zgodnie z następującym wzorem:

$$\text{Procent reaktywności krzyżowej} = \frac{[(\text{wynik po dodaniu} - \text{wynik rzeczywisty}) / \text{stężenie steroidu}] \times 100}$$

Substancje zakłócające

Do badania zakłóceń przygotowano zbiorcze próbki surowicy psów o wysokim [$31,2 \mu\text{g/dl}$ ($860,7 \text{ nmol/l}$)] i niskim [$2,1 \mu\text{g/dl}$ ($57,9 \text{ nmol/l}$)] stężeniu kortyzolu, wizualnie pozbawione substancji zakłócających. Aby ocenić potencjalny wpływ typowych czynników zakłócających – hemolizy, lipemii i podwyższonego stężenia bilirubiny – zastosowano, odpowiednio, hemolizat krwinek czerwonych psów⁷, Intralipid™⁸ i ditaurobilirubinę⁹. Do porcji zbiorczych próbek surowicy dodano różne stężenia poszczególnych substancji zakłócających, jak szczegółowo opisano w tabeli 3. Następnie wszystkie próbki przeanalizowano na analizatorach Catalyst One i Catalyst Dx, aby ocenić odporność testu na te substancje. Procentowy średni błąd systematyczny obliczono przy użyciu następującego wzoru:

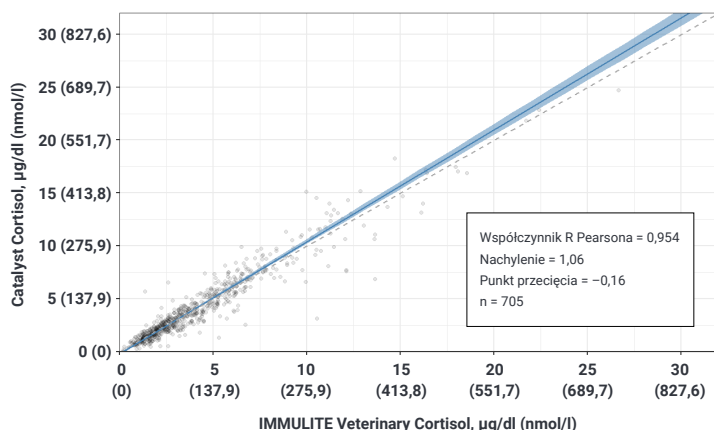
$$\text{Procentowy średni błąd systematyczny} = \frac{(\text{wynik próbki z dodatkiem} - \text{wynik rzeczywisty}) / \text{wynik rzeczywisty}}{\times 100}$$

Wszystkie analizy zakłóceń przeprowadzono zgodnie z wytycznymi CLSI EP07¹².

Wyniki

Porównanie metod

Wykres regresji oceniający korelację w całym zakresie dynamiki testu przedstawiono na rysunku 1. Catalyst Cortisol wykazuje doskonałą korelację ($R = 0,95$) z metodą referencyjną, przy minimalnym lub zerowym błędzie systematycznym (nachylenie 1,06).



Rysunek 1. Wykres korelacji (regresja Passinga-Babloka) porównań

parami Catalyst™ Cortisol i testu IMMULITE™ Veterinary Cortisol w próbkach pobranych od psów w raportowalnym zakresie. Linia najlepszego dopasowania (regresja liniowa) jest przedstawiona na wykresie (niebieska linia ciągła) przy 95% CI (obszar zacieniony) i $X = Y$ (szara linia przerywana).

Precyzja

Wyniki badania precyzji podsumowano w tabeli 1. Badanie wykazało całkowity współczynnik zmienności (%CV) poniżej 10% w przypadku klinicznie istotnych stężeń kortyzolu [2,1 mg/dl (57,9 nmol/l)–20,4 µg/dl (562,8 nmol/l)], co wskazuje na doskonałą precyzję analityczną w zastosowaniach weterynaryjnych.

Reaktywność krzyżowa

Profil reaktywności krzyżowej Catalyst Cortisol przedstawiono w tabeli 2. Nie przewiduje się, aby reakcja krzyżowa z naturalnie występującymi hormonami steroidowymi miała wpływ na kliniczną interpretację wyników. Reaktywność krzyżowa tego testu z często stosowanymi glikokortykosteroidami jest porównywalna z reaktywnością krzyżową innych dostępnych komercyjnie testów do oznaczania kortyzolu. Na przykład: próbki pobrane od pacjentów przyjmujących prednizon lub prednizolon mogą wykazywać fałszywie podwyższone stężenia kortyzolu, podczas gdy deksametazon ma minimalny wpływ.

Substancje zakłócające

Wyniki dotyczące substancji zakłócających podsumowano w tabeli 3. W przypadku próbek lipemicznych nie zaobserwowano żadnych zakłóceń. Jednakże podwyższony poziom bilirubiny i umiarkowana lub znaczna hemoliza miały wpływ na wyniki. Należy unikać stosowania z tym testem próbek zawierających te substancje zakłócające.

Wniosek

Catalyst Cortisol charakteryzuje się minimalnym błędem statystycznym, doskonałą precyzją i silną korelacją z testem IMMULITE Veterinary Cortisol, co potwierdza jego dokładność i niezawodność w pomiarach kortyzolu u psów w lecznicy.

Należy unikać próbek o podwyższonej zawartości bilirubiny bądź próbek umiarkowanie lub silnie zhemolizowanych, ponieważ substancje te mogą mieć wpływ na działanie testu.

Kortykosteroidy, takie jak prednizon i prednizolon, wchodzą w reakcje krzyżowe z testem i mogą generować fałszywie podwyższone stężenia kortyzolu. U pacjentów przyjmujących kortykosteroidy test należy wykonać dopiero po upływie odpowiedniego okresu eliminacji, który zależy od rodzaju podanego leku, jego dawki i czasu trwania leczenia.

Chociaż deksametazon nie wchodzi w reakcje krzyżowe z Catalyst Cortisol, jego podanie zmienia czynność przysadki mózgowej i nadnerczy. Dlatego w przypadku pacjentów, u których podejrzewa się niedoczynność kory nadnerczy, przed podaniem deksametazonu zaleca się oznaczenie poziomu kortyzolu.

Średnie stężenie, µg/dl (nmol/l)	Odchylenie standardowe, µg/dl (nmol/l)	Współczynnik zmienności (%)	Liczba powtórzeń
2,10 (57,9)	0,14 (3,9)	7,75	320
6,30 (173,8)	0,29 (8)	5,39	320
20,40 (562,8)	1,11 (20,3)	6,81	320

Tabela 1. Podsumowanie wyników badania precyzji.

Typ związku	Związek	Stężenie związku, µg/dl (nmol/l)	Catalyst™ Cortisol, % reaktywności krzyżowej (bazowe stężenie kortyzolu 2,10 µg/dl)	Catalyst Cortisol, % reaktywności krzyżowej (bazowe stężenie kortyzolu 25,00 µg/dl)
Naturalnie występujący hormon	Kortykosteron	400 (11 034,5)	7,12	5,18
	Kortyzon	400 (11 034,5)	11,24	8,56
	11-deoksykortyzol	100 (2758,6)	10,27	2,93
	17-alfa-hydroksyprogesteron	400 (11 034,5)	0,05	0,11
	Aldosteron	1000 (27 586,2)	0,13	0,15
	Progesteron	400 (11 034,5)	0,03	0,23
Lek	Metyloprednizolon	200 (5517,2)	0,10	0,57
	Piwalan dezoksykortykosteronu (DOCP)	400 (11 034,5)	0,03	0,28
	Deksametazon (1)	400 (11 034,5)	0,02	0,51
	Deksametazon (2)	4000 (110344)	0,01	0,04
	Fludrokortyzon	1000 (27 586,2)	4,09	2,75
	Prednizolon	8 (220,7)	23,87	15,56
	Prednizon	16 (441,4)	1,51	1,51
	Triamcynolon	5000 (137 931)	<0,01	0,02

Tabela 2. Podsumowanie badania reaktywności krzyżowej z obliczonymi wartościami reaktywności krzyżowej.

Substancja zakłócająca	Poziom zakłócający	Stężenie Catalyst Cortisol, µg/dl (nmol/l)		% średni błąd systematyczny	
		Niski	Wysoki	Niski	Wysoki
Hemoliza	Kontrola / bez skoku	2,15 (59,3)	30,29 (835,6)	—	—
	25	2,28 (62,9)	31,08 (857,4)	6,0	2,6
	150	2,55 (70,3)	31,02 (855,7)	18,6	2,4
	250	2,53 (69,8)	30,55 (842,8)	17,7	0,9
	500	2,37 (65,4)	28,29 (780,4)	10,2	-6,6
Lipemia	Kontrola / bez skoku	2,18 (60,1)	31,49 (868,7)	—	—
	125	2,12 (58,5)	31,05 (856,6)	-2,8	-1,4
	250	2,12 (58,5)	31,05 (856,6)	-3,0	-1,4
	500	2,12 (58,5)	30,67 (846,1)	-2,7	-2,6
Podwyższony poziom bilirubiny	Kontrola / bez skoku	2,07 (57,1)	31,77 (876,4)	—	—
	0,5	2,14 (59)	29,88 (824,3)	3,3	-5,4
	1,0	2,24 (61,8)	28,36 (782,3)	8,3	-10,7
	2,0	2,40 (66,2)	25,42 (701,2)	15,8	-20,0

Tabela 3. Podsumowanie wyników badania substancji zakłócających z obliczonym błędem statystycznym.

Bibliografia

1. Behrend EN, Kooistra HS, Nelson R, Reusch CE, Scott-Moncrieff JC. Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (small animal). *J Vet Intern Med.* 2013;37(6):1292–1304. doi:10.1111/jvim.12192

2. Bugbee A, Rucinsky R, Cazabon S, et al. 2023 AAHA Selected Endocrinopathies of Dogs and Cats Guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2023;59(3):113–135. doi:10.5326/JAAHA-MS-7368

3. Galac S. Hyperadrenocorticism (Cushing's syndrome) in dogs. W: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, red. *Ettinger's Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult.* Vol 2. 9th ed. Elsevier; 2024:2004–2021.

4. Hess RS. Hypoadrenocorticism. W: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, red. *Ettinger's Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult.* Vol 2. 9th ed. Elsevier; 2024:2036–2045.

5. European Society of Veterinary Endocrinology. Project ALIVE. Dostęp: 29 czerwca 2025 r. www.esve.org/alive/intro.aspx

6. Bovens C, Tennant K, Reeve J, Murphy KF. Basal serum cortisol concentration as a screening test for hypoadrenocorticism in dogs. *J Vet Intern Med.* 2014;28(5):1541–1545. doi:10.1111/jvim.12415

7. Gallego AF, Gow AG, Boag AM. Evaluation of resting cortisol concentration testing in dogs with chronic gastrointestinal signs. *J Vet Intern Med.* 2022;36(2):525–531. doi:10.1111/jvim.16365

8. Gold AJ, Langlois DK, Refsal KR. Evaluation of basal serum or plasma cortisol concentrations for the diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs. *J Vet Intern Med.* 2016;30(6):1798–1805. doi:10.1111/jvim.14589

9. Lennon EM, Boyle TE, Hutchins RG, et al. Use of basal serum or plasma cortisol concentrations to rule out a diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs: 123 cases (2000–2005). *JAVMA.* 2007;231(3):413–416. doi:10.2460/javma.231.3.413

10. CLSI. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples.* 3rd ed. CLSI document EP09c. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.

11. CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline.* 3rd ed. CLSI document EP05 A3. Clinical and Laboratory Standards Institute; October 2014; reaffirmed September 2019.

12. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry.* 3rd ed. CLSI document EP07 Ed3. Clinical and Laboratory Standards Institute; April 30, 2018; reaffirmed October 2022.