

Le Test Catalyst SDMA d'IDEXX pour la mesure en clinique de la concentration sérique de SDMA chez les chiens et les chats



Par Graham Bilbrough, Barbara Evert, Karen Hathaway, Gina Panagakos, Jane Robertson et Maha Yerramilli

Introduction

La SDMA (diméthylarginine symétrique) est une forme méthylée de l'arginine présente dans les protéines intracellulaires de toutes les cellules nucléées des vertébrés et excrétée par les reins. La SDMA est bien corrélée au taux de filtration glomérulaire (TFG) chez les humains¹, les chiens^{2,3} et les chats^{4,6}. La SDMA est plus sensible que la créatinine (CREA) et sa concentration augmente plus tôt. Alors que la concentration de créatinine ne dépasse pas les valeurs de référence avant qu'il y ait 75 % de perte de la fonction rénale, des études ont montré que la SDMA augmente à partir d'une diminution de 40 % en moyenne du TFG et dès une diminution de 25 % du TFG^{2,3,5}. La SDMA augmente avec la lésion rénale aiguë ou active et la maladie rénale chronique, ce qui permet aux vétérinaires d'intervenir plus tôt et ainsi d'assurer une meilleure évolution clinique. De plus, la concentration de SDMA, contrairement à la CREA, n'est pas influencée par la masse corporelle maigre^{6,7}. Pour ces raisons, le test IDEXX SDMA[®] devient rapidement un paramètre essentiel pour tous les bilans biochimiques de routine.

Le test Catalyst[®] SDMA est un nouveau système de dosage immunologique d'IDEXX conçu pour mesurer sans dilution la concentration de SDMA dans les échantillons de sérum ou de plasma avec héparinate de lithium des chiens et des chats. Ce dernier est conçu pour produire rapidement des résultats de test fiables et exacts en clinique vétérinaire avec les analyseurs de biochimie IDEXX Catalyst One[®] ou IDEXX Catalyst Dx[®]. Le test utilise les mêmes valeurs de référence (de 0 à 14 µg/dL), lignes directrices en matière d'interprétation et gamme de valeurs mesurables (de 0 à 100 µg/dL) que le test IDEXX SDMA du laboratoire de référence.

Les quatre objectifs de cette étude visaient à évaluer ce qui suit :

- La performance du nouveau test par une comparaison des méthodes avec une méthode de référence (comparaison des méthodes).
- La précision du test à l'aide de liquides de contrôle (précision).
- La spécificité analytique (spécificité analogique).
- L'impact de l'hémolyse, de la lipémie et de l'ictère sur la concentration mesurée (substances interférentes).

Matériel et méthodes

Les données ont été consignées dans Microsoft Office Excel[®] 2016* avant d'être exportées vers JMP[®] 13.0.0[†] pour l'analyse statistique, incluant l'utilitaire de comparaison des méthodes[‡].

Comparaison des méthodes

Des échantillons de sérum résiduel ont été prélevés sur 107 chiens et 113 chats en santé ou traités en clinique.

Tous les échantillons ont été analysés une fois à l'aide du test Catalyst SDMA et deux fois avec une méthode analytique de chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse (CPL SM)[§]. La moyenne des résultats de la CPL-SM a été utilisée comme méthode de référence et comparée avec le résultat du test Catalyst SDMA.

Une analyse de régression linéaire selon Passing-Bablok a été effectuée pour chaque espèce. Les coefficients de corrélation ont été interprétés comme suit : $r =$ de 0,90 à 1,0, équivaut à une corrélation très élevée; de 0,70 à 0,89, corrélation élevée; de 0,50 à 0,69, corrélation modérée; de 0,30 à 0,49, corrélation faible; et de 0 à 0,29, peu de corrélation, voire aucune[§].

L'analyse de régression a également été utilisée pour trouver des preuves statistiques d'erreur systématique (biais constant ou proportionnel). Les intervalles de confiance (IC) à quatre vingt quinze pour cent du point d'intersection avec l'axe y qui n'incluaient pas la valeur zéro étaient considérés comme des preuves de biais constant. Les IC à quatre-vingt-quinze pour cent de la pente qui n'incluaient pas la valeur 1,0 étaient considérés comme des preuves de biais proportionnel.

Les résultats de chaque méthode, arrondis au nombre entier le plus proche, étaient classés en fonction des seuils suivants : ≤ 14 µg/dL (à l'intérieur des valeurs de référence); de 15 à 19 µg/dL; ≥ 20 µg/dL. Les classifications ont ensuite été comparées dans un tableau de contingence pour chaque espèce.

Précision

La précision a été évaluée conformément aux lignes directrices de la méthode EP5-A du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)[§]. Deux niveaux de liquide de contrôle (liquide A et liquide B) ont été testés sur un analyseur de biochimie Catalyst Dx. Pour chaque espèce, 4 répliqués étaient analysés chaque avant-midi et

* Microsoft Office Excel[®] 2016, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, É.-U.

† JMP[®] 13.0.0, SAS Institute Inc., Cary, Caroline du Nord, É.-U.

‡ Utilitaire de comparaison des méthodes, SAS Institute Inc., Cary, Caroline du Nord, É.-U.

§ La méthode CPL-SM a été décrite dans un résumé de l'assemblée annuelle 2015 de l'AACC. La séparation par chromatographie en phase liquide (CPL) a été réalisée à l'aide de la colonne XBridgeMC C18 en phase inverse et un agent de formation de paires d'ions. Le spectromètre de masse triple quadripolaire API 4000MC (Applied Biosystems/MDS Sciex) a été utilisé en mode de surveillance de réactions multiples (SRM) avec une interface d'électronébulisation positive. La transition SRM de la SDMA a été observée à un rapport masse/charge de 203,2 / 172,1.¹⁰

chaque après-midi pendant 10 jours, pour un total de 80 réplicats par espèce. La précision totale a été calculée en fonction des lignes directrices de la méthode EP5-A du CLSI.

Spécificité analogique

La réactivité croisée a été mesurée par l'addition de trois substances de contrôle différentes avec des concentrations pertinentes sur le plan physiologique d'arginine, de

diméthylarginine asymétrique (ADMA) ou de monométhyl-L-arginine (MMA). Une solution tampon de phosphate (STP) a été utilisée comme solution de contrôle pour compenser le changement de volume avec l'additif (« liquide de contrôle »). Pour chaque liquide de contrôle, il y avait quatre aliquotes (enrichies d'ADMA, enrichies de MMA, enrichies d'arginine et de « liquide de contrôle »), pour un total de 12 aliquotes qui ont été analysées six fois avec le test Catalyst SDMA et à partir desquelles une moyenne a été calculée.

Le pourcentage de changement a été calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage de changement} = 100 \times \frac{\text{Concentration moyenne « enrichie » de SDMA} - \text{concentration moyenne « liquide de contrôle » de SDMA}}{\text{Concentration moyenne « liquide de contrôle » de SDMA}}$$

Le pourcentage de réactivité croisée a été calculé comme suit :

$$\text{Pourcentage de réactivité croisée} = 100 \times \frac{\text{Concentration moyenne « enrichie » de SDMA} - \text{concentration moyenne « liquide de contrôle » de SDMA}}{\text{Concentration de l'additif}}$$

La concentration moyenne « enrichie » de SDMA de chaque aliquote a été comparée avec la concentration moyenne « liquide de contrôle » de SDMA pour tenter d'établir s'il y avait une différence statistiquement significative (test HSD (différence vraiment significative) de Tukey-Kramer; $p < 0,05$).

Substances interférentes

L'interférence causée par la présence d'hémoglobine, de lipides ou de bilirubine a été évaluée conformément aux lignes directrices de la méthode EP7-A2 du CLSI¹¹. Des échantillons de sérum canin, visiblement exempts d'interférents, ont été prélevés et regroupés. Les aliquotes de l'échantillon combiné ont ensuite été préparées et enrichies de diverses concentrations des substances présentées au tableau 1. Chaque aliquote a été analysée en double sur huit analyseurs de biochimie Catalyst One en ordre aléatoire.

Tableau 1. Préparation des aliquotes de l'échantillon combiné pour évaluer des substances interférentes courantes.

Interférence	Substance ajoutée	Nombre de niveaux de la substance interférente
Hémolyse	Globules rouges canins lysés pour produire de l'hémoglobine	7
Lipémie	Intralipid 20 %	5
Ictère	Ditaurobilirubine (DTB; dérivé synthétique de la bilirubine)	7

Un test HSD pour toutes les paires de Tukey-Kramer ($p < 0,05$) a été effectué avec la concentration moyenne de SDMA de chaque aliquote pour tenter d'établir s'il y avait des différences statistiquement significatives.

Résultats

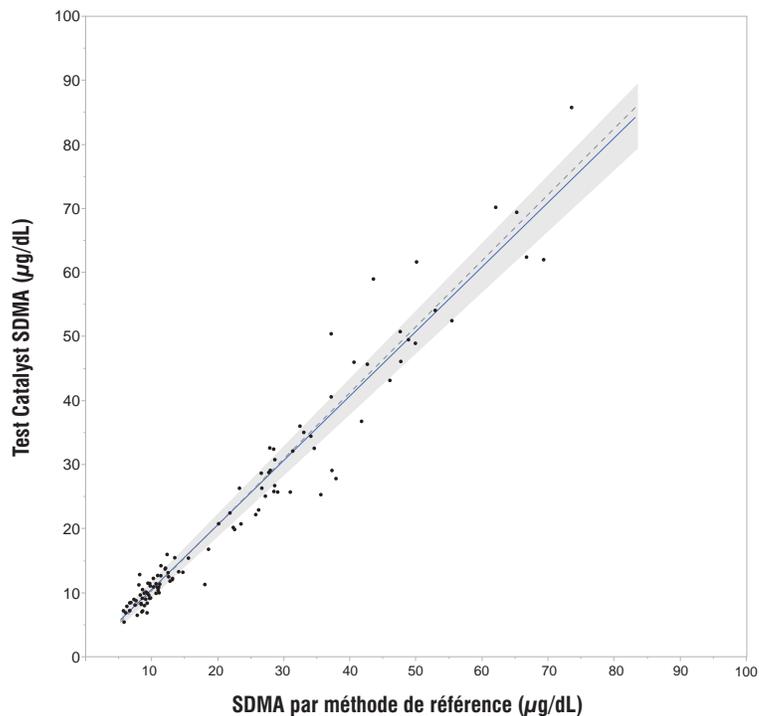
Comparaison des méthodes

Les tracés de régression sont illustrés aux figures 1A (canine) et 1B (féline). Les résultats sont résumés aux tableaux 2 et 3. Le test Catalyst SDMA a révélé une excellente corrélation avec la méthode de référence sans preuve de biais pour les deux espèces. Pour la classification des résultats, il y avait une forte concordance entre les deux méthodes.

Figure 1. Régression selon Passing-Bablok.

Droite de régression indiquée en bleu (avec un IC à 95 %); unité indiquée par une ligne tiretée grise.

A. Canine: $n = 107$; corrélation (r) = 0,98; pente = 0,98; point d'intersection = 0,44 $\mu\text{g/dL}$



B. Féline: $n = 113$; corrélation (r) = 0,94; pente = 1,00; point d'intersection = -0,95 $\mu\text{g/dL}$

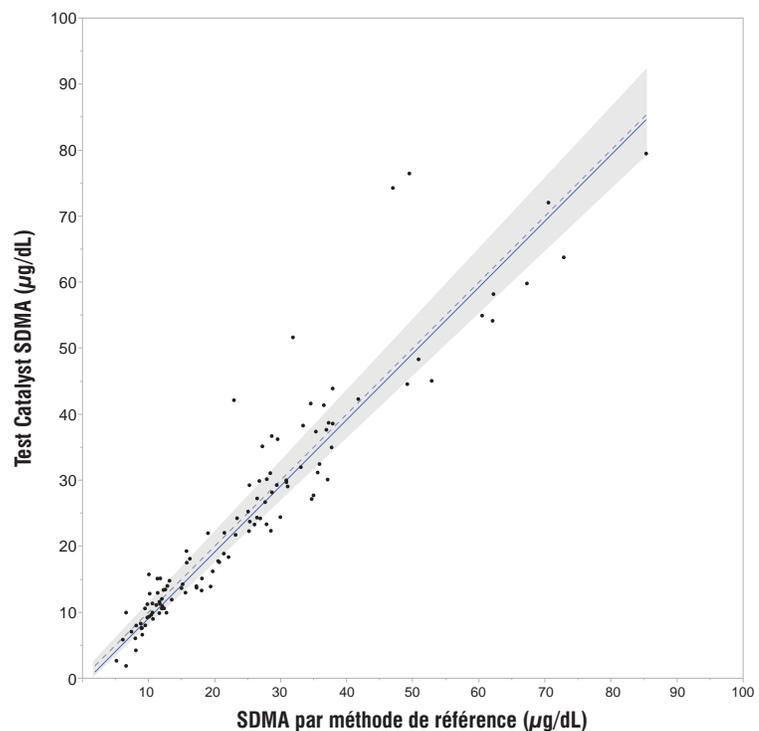


Tableau 2. Analyse de régression par espèce.

	Canine	Féline
n	107	113
Corrélation (r)	0,98	0,94
Différence moyenne (écart type) $\mu\text{g/dL}$	-0,28 (3,84)	-0,02 (5,69)
Point d'intersection (IC à 95 %) $\mu\text{g/dL}$	0,44 (de -0,54 à 0,99)	-0,95 (de -2,18 à 0,03)
Pente (IC à 95 %)	0,98 (de 0,92 à 1,02)	1,00 (de 0,94 à 1,07)

Table 3. Tableau de contingence par espèce.

A. Canine: n = 107; concordance générale = 95 %

		Concentration moyenne de SDMA avec la méthode de référence		
		$\leq 14 \mu\text{g/dL}$	de 15 à 19 $\mu\text{g/dL}$	$\geq 20 \mu\text{g/dL}$
Résultat du test Catalyst SDMA	$\leq 14 \mu\text{g/dL}$	49 %	3 %	0 %
	de 15 à 19 $\mu\text{g/dL}$	2 %	2 %	0 %
	$\geq 20 \mu\text{g/dL}$	0 %	0 %	44 %

Pour les échantillons discordants, l'écart médian absolu était de 2 $\mu\text{g/dL}$.

B. Féline: n = 113; concordance générale = 85 %

		Concentration moyenne de SDMA avec la méthode de référence		
		$\leq 14 \mu\text{g/dL}$	15–19 $\mu\text{g/dL}$	$\geq 20 \mu\text{g/dL}$
Résultat du test Catalyst SDMA	$\leq 14 \mu\text{g/dL}$	31 %	6 %	0 %
	de 15 à 19 $\mu\text{g/dL}$	4 %	4 %	4 %
	$\geq 20 \mu\text{g/dL}$	0 %	1 %	50 %

Pour les échantillons discordants, l'écart médian absolu était de 3 $\mu\text{g/dL}$.

Précision

Les résultats de l'analyse de la précision sont présentés au tableau 4. La nouvelle méthode révèle un coefficient de variation (CV) total < 10 %. Ce dernier concorde avec les immunoessais à haut débit pour la SDMA utilisés dans les Laboratoires de Référence IDEXX[†].

Tableau 4. Sommaire des résultats de l'étude de détermination de la précision.

Liquide de contrôle	Espèces	Réplicats	Concentration moyenne de SDMA (µg/dL)	Écart type (µg/dL)	CV %
Liquide A	Canine	80	15,50	0,96	6,2
	Féline	80	18,39	1,25	6,8
Liquide B	Canine	80	36,01	2,02	5,6
	Féline	80	44,99	2,54	5,6

Spécificité analogique

Les résultats de l'analyse de la spécificité sont présentés au tableau 5. Aucun changement statistiquement significatif n'a été observé dans les aliquotes enrichies.

Tableau 5. Sommaire de l'étude de détermination de la spécificité analogique. Concentration de l'additif après l'enrichissement : MMA, 50 µg/dL; ADMA, 50 µg/dL; arginine, 2500 µg/dL.

Substance de contrôle	Concentration de SDMA dans le « liquide de contrôle »	Additif	Pourcentage de changement	Pourcentage de réactivité croisée
1	13,90	MMA	0,91	0,25
		ADMA	6,76	1,88
		Arginine	2,82	0,02
2	28,41	MMA	-6,83	-5,90
		ADMA	-0,02	-0,02
		Arginine	1,36	0,02
3	43,14	MMA	1,92	1,02
		ADMA	0,36	0,19
		Arginine	-0,46	0,00

[†]Le résumé de l'assemblée annuelle 2015 de l'AACC a révélé une précision totale ≤ 10 %¹².

Substances interférentes

Les résultats de l'étude de détermination des substances interférentes sont présentés au tableau 6. Les substances interférentes courantes analysées n'ont eu aucun impact statistiquement significatif sur les concentrations mesurées de SDMA.

Tableau 6. Impact des substances interférentes.

Hémolyse		Lipémie		Ictère	
Concentration d'hémoglobine (mg/dL)	Concentration moyenne du test Catalyst SDMA ($\mu\text{g/dL}$)	Concentration d'Intralipid (mg/dL)	Concentration moyenne du test Catalyst SDMA ($\mu\text{g/dL}$)	Concentration de DTB (mg/dL)	Concentration moyenne du test Catalyst SDMA ($\mu\text{g/dL}$)
Non enrichie	11,02	Non enrichie	12,84	Non enrichie	13,77
31,25	11,95	250	12,88	1	13,50
62,5	12,09	500	13,02	3	13,29
125	11,41	750	12,95	10	13,54
250	12,03	1,000	13,28	20	13,25
375	12,63			30	13,61
500	11,53			40	12,99

Conclusions

Le nouveau test Catalyst® SDMA révèle une excellente corrélation avec la méthode de référence.

Il s'agit d'une option exacte, précise, fiable et pratique pour aider les vétérinaires à diagnostiquer la maladie rénale chez les chats et les chiens à l'aide des analyseurs de biochimie en clinique Catalyst Dx® et Catalyst One® et à en suivre l'évolution.

Références

1. Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Boeger SM, Cooke JP, Fliser D. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function—a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(9):2446–2451.
2. Nabity MB, Lees GE, Boggess M, et al. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for early detection of chronic kidney disease in dogs. *J Vet Intern Med*. 2015;29(4):1036-1044.
3. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Almes K, Jewell DE. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*. 2016;30(3):794-802.
4. Braff J, Obare E, Yerramilli M, Elliott J, Yerramilli M. Relationship between serum symmetric dimethylarginine concentration and glomerular filtration rate in cats. *J Vet Intern Med*. 2014;28(6):1699-1701.
5. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Jewell DE. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J Vet Intern Med*. 2014;28(6):1676-1683.
6. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Yu S, Jewell DE. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. *Vet J*. 2014;202(3):588-596.
7. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, Yerramilli M, Melendez LD, Jewell DE. Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *J Vet Intern Med*. 2015;29(3):808-814.
8. Zady MF. *Z-stats/basic statistics, Z-12: Correlation and simple least squares regression*. Site Web de Westgard QC. www.westgard.com/lesson42.htm. Publié en août 2000. Consulté le 5 décembre 2017.
9. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Troisième édition. Document EP05-A3 du CLSI. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
10. Patch D, Obare E, Prusevich P, et al. High throughput immunoassay for kidney function biomarker symmetric dimethylarginine (SDMA) [résumé B-047 de l'assemblée annuelle de l'AACC]. *Clin Chem*. 2015;61(10) :S135.
11. CLSI. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Deuxième édition. Document EP7-A2 du CLSI. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
12. Prusevich P, Patch D, Obare E, et al. Validation of a novel high throughput immunoassay for the quantitation of symmetric dimethylarginine (SDMA) [résumé B-048 de l'assemblée annuelle de l'AACC]. *Clin Chem*. 2015;61(10):S135.