



Självständigt arbete (examensarbete), 15 hp

Kandidatexamen i biomedicinsk laboratorievetenskap
VT 2017

Kvantifiering av Serum Amyloid A hos katt

Utvärdering av mätinstrumentet
LifeAssays® Vetreader

Frida Sjögren

Sektionen för lärande och miljö [Arial 14p]

Populärvetenskaplig sammanfattning

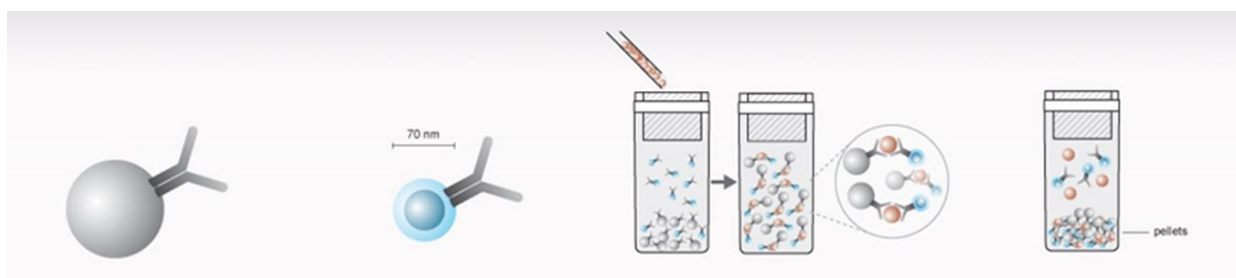
Akutfasproteiner i serum produceras i lever och immunceller och förändras vid olika skador såsom vid trauma, infektion eller inflammation. Positiva akutfasproteiner ökar i koncentration vid stimuli och de negativa minskar. Gruppen positiva akutfasprotein delas in i undergrupperna major, moderat och minor beroende på hur snabbt och i vilken styrka de ökar.

Serum Amyloid A (SAA) är ett akutfasprotein hos katt som tillhör gruppen major positivt akutfasprotein. SAA drar till sig immunförsvarets neutrofila granulocyter, T-celler och monocyter för att bekämpa infektion/inflammation. SAA binder även in till gramnegativa bakterier och gör det lättare för immuncellerna att bekämpa bakterierna. SAA är det akutfasprotein som ökar snabbast hos katt. Haptoglobin, som vanligtvis analyseras, tillhör däremot gruppen moderat positivt akutfasprotein.

Syftet med studien var att undersöka om SAA-koncentrationen kan indikera sjukdom hos katt. Hur förändras koncentrationerna av SAA hos katter som får behandling mot inflammation/infektion? Hur är värdena av SAA i förhållande till totala antalet leukocyter, neutrofila granulocyter samt koncentrationen av det positiva akutfasprotein haptoglobin?

Vid mätning av SAA används kiseldioxidpartiklar och magnetiska nanopartiklar som är täckta med specifika antikroppar. När serum innehållande SAA blandas med partiklarna binder antikropparna till SAA och bildar ett sandwichkomplex. Dessa sjunker till botten av reagensvialen och ändrar den elektromagnetiska spänningen (induktansen) (figur 1).

Instrumentet LifeAssays® VetReader mäter skillnaden i induktans innan och efter tillsättning av serum och beräknar koncentrationen (mg/L). Motsvarande metod med specifika antikroppar användes för att mäta haptoglobin och leukocyter mättes med flödescytometrisk metod.



Figur 1. Kiseldioxidpartiklar och magnetiska nanopartiklar täckta med antikroppar riktade mot SAA binder in till SAA i provet och bildar ett sandwichkomplex. Komplexet sjunker till botten av vialen och bildar ett sediment. Källa: LifeAssays © användarmanual.

I studien analyserades prover från både friska katter och katter med olika sjukdomstillstånd. Provtubudet för studien bestod av 35 blodprover från 32 katter.

Korrelationen mellan SAA och övriga parametrar visade signifikant positiv korrelation med leukocyterna, men korrelerade inte med haptoglobin. Haptoglobin korrelerar inte heller med leukocyterna. Det kan ha berott på ett tidigt sjukdomsskede hos patienterna eftersom haptoglobin anses ha långsammare reaktion. I likhet med andra fall-studier registrerades också sjunkande koncentration av SAA hos en av katterna då den behandlades för infektion.

Studien har visat att det finns en möjlighet att använda SAA som en tidig markör av inflammation och infektion. SAA är även ett användbart verktyg för att följa respons av behandling. Vidare studier med större antal prov är önskvärt för att bekräfta resultaten.

Frida Sjögren

Titel

Kvantifiering av Serum Amyloid A hos katt. Utvärdering av mätinstrumentet LifeAssays® Vetreader.

Handledare

Dusan Jankovic Leg. veterinär.

Filiz Ibraimi, M.Sc, Chief Operating Officer.

Bodil Hernroth, professor i biomedicinsk laboratorievetenskap, Leg. biomedicinsk analytiker.

Examinator

Ann-Sofi Rehnstam-Holm, professor i mikrobiologi, Leg. biomedicinsk analytiker.

Sammanfattning

Serum Amyloid A (SAA) är ett akutfasprotein som hos katt tillhör gruppen major positiv akutfasprotein. Haptoglobin är ett akutfasprotein som ingår i gruppen moderat positiv akutfasprotein. Vid stimuli som trauma, infektion och inflammation ökar koncentrationen av SAA och haptoglobin i blodet. I studien analyserades totalt 35 prover från 32 patienter. Provmaterialet bestod av blodprover från friska katter samt katter med olika sjukdomstillstånd. Hos samtliga prover mättes koncentrationen av SAA (range: 10 – 210 mg/L), koncentrationen av haptoglobin (range: 40 – 600 mg/100 ml), totala antalet leukocyter (WBC) och neutrofila granulocyter (NEU). SAA mättes med LifeAssays® Feline SAA Test Kit som baseras på en two-site heterogenous immunoassay metod. Av de 35 patientproverna hade sju prover SAA värde utanför referens (referens: <20 mg/L) medan åtta prover hade förhöjd koncentration av haptoglobin (referens: <250 mg/dl). Enbart tre prover hade förhöjd koncentration av SAA och haptoglobin. Förhöjda värden av WBC (referens: 2.87 – 17.02 *10⁹/L) och NEU (referens: 1.48 – 10.29 *10⁹/L) sågs i samband med förhöjd koncentration av SAA. Korrelationsanalys bekräftade signifikant positiv korrelation mellan SAA och WBC (p-värde: <0.001) samt mellan SAA och NEU (p-värde: <0.001). Ingen signifikant korrelation sågs mellan SAA och haptoglobin. Då ett patientfall med konstaterad kronisk njursvikt undersöktes vid fyra tillfällen under åtta dagars behandling sjönk SAA koncentrationen vilket indikerade adekvat behandling. Studien har visat att feline serum amyloid A kan fungera som en tidig bio-markör för identifiering av patologiska tillstånd samt för att monitorera hur väl en terapi mot en pågående infektion fungerar.

Nyckelord

Serum amyloid A, two-site heterogenous immunoassay, haptoglobin, akutfasprotein.

Frida Sjögren

Title

Quantification of Serum Amyloid A in cats. Evaluation of measuring instrument LifeAssays® Vetreader.

Supervisor

Dusan Jankovic Leg. Veterinär.

Filiz Ibraimi, M.Sc, Chief Operating Officer.

Bodil Hernroth, Professor i biomedicinsk laboratorievetenskap, Leg. Biomedicinsk analytiker.

Examiner

Ann-Sofi Rehnstam-Holm Professor i Mikrobiologi, Leg. Biomedicinsk analytiker.

Abstract

Serum Amyloid A (SAA) is an acute-phase protein classified as positive major acute-phase protein (APP), while haptoglobin is classified as positive moderate in cats. Injuries like trauma, infection or inflammation increases the concentration of SAA and haptoglobin in the blood. 35 samples from 32 cats was analyzed in this study. Blood from healthy cats and from cats with different disease state were collected. The concentration of SAA (range: 10 – 210 mg/L) and haptoglobin (range: 40 – 600 mg/dl) were measured in all samples along with the total amount of leukocytes (WBC) and neutrophils (NEU). SAA was measured with LifeAssays® Feline SAA Test Kit which uses a two-site heterogenous immunoassay. Seven of these samples had a concentration of SAA above the reference (reference: <20 mg/L), while eight had a haptoglobin-concentration above the reference (reference: <250 mg/dl). Only three samples had simultaneously a concentration of SAA and haptoglobin above reference. Increased quantity of WBC (reference: 2.87 – 17.02 *10⁹/L) and NEU (reference: 1.48 – 10.29 *10⁹/L) could be seen in conjunction with elevated levels of SAA. A significant positive correlation was observed between SAA and WBC (p-value: <0.001) as well as between SAA and NEU (p-value:<0.001). No significant correlation was obtained between SAA and haptoglobin. Four blood samples from a patient with chronic renal failure were collected over eight days. A decrease of SAA-concentration was visible as a response to treatment. This study shows that serum amyloid A can be used as an early biomarker for identifying a number of pathological states as well as to monitor how well treatment against an ongoing infection works.

Keywords

Serum amyloid A, two-site heterogenous immunoassay, haptoglobin, acute-phase protein.

Innehåll

1. Inledning	7
1.1. Syfte.....	8
2. Material och metoder	8
2.1. Provmaterial.....	8
2.2. LifeAssays® Feline Serum Amyloid A Test Kit.....	8
2.3. LifeAssays® Feline Haptoglobin Test Kit	9
2.4. ProCyte DX® Hematology Analyzer	9
3. Resultat	10
4. Diskussion.....	14
5. Slutsats.....	16

1. Inledning

Koncentrationen av akutfasproteiner i serum ändras vid trauma, infektion, vävnadsskada samt inflammation (Gómez-Laguna et al. 2011). Akutfasproteiner delas in i grupperna positiva och negativa. Negativa akutfasprotein innebär att deras koncentration i blodet sjunker vid stimuli (Gómez-Laguna et al. 2011) medan de positiva akutfasproteinerna ökar vid stimuli. Positiva akutfasproteiner delas in i tre undergrupper; major, moderat och minor (Kann et al 2011) baserat på tiden och styrkan för koncentrationsökningen. Hos djur ökar major 10 - 100 gånger medan moderat ökar 2-10 gånger sin ursprungliga koncentration (Kann et al. 2011).

Hos katt är haptoglobin ett moderat akutfasprotein, medan serum amyloid A (SAA) och α_1 - acid glycoprotein (AGP) tillhör gruppen major, medan albumin och transferrin är negativa akut fas protein (Gómez-Laguna et al. 2011). Av de positiva akutfasproteinerna hos katt ökar SAA tidigast vid stimuli (Kajikawa et al. 1999).

Kort efter en skada och vid infektion eller inflammation sker en aktivering av det innta immunförsvaret (Tamamoto et al. 2008). Akutfas reaktionen är en del av det innta immunförsvaret och behövs för att återställa homeostasen samt motverka/avlägsna påverkan (Cerón et al. 2005). Akutfas reaktionen karaktäriseras av olika systemiska effekter; feber, leukocytosis, ökad kortisolkoncentration och minskad tyroxinkoncentration i blodet, minskad koncentration av zink och järn i serum, metaboliska ändringar samt koncentrationsskillnader i blodet av olika akutfasprotein (Cerón et al. 2005). SAA bildas huvudsakligen i levern men kan även produceras av njurarna, benmärgen, tarm, bröstkörtel och fettvävnad (Cerón et al. 2005).

SAA fungerar genom att attrahera neutrofiler, T-celler och monocyter till en skada. SAA är ett opsoninn genom att det kan binda in till gramnegativa bakterier, vilket gör det lättare för kroppen att fagocytera dessa. Förutom detta transporterar SAA kolesterol till levercellerna och fungerar som trombocytaktivator (Estensson, 2012). Även vid kroniska inflammationer ses förhöjda värden av akutfasprotein (Cerón et al. 2005).

1.1. Syfte

Syftet med studien var att undersöka om förhöjda SAA-koncentrationer kan indikera sjukdom hos katt. Hur förändras koncentrationerna av SAA hos katter som får behandling mot infektion/inflammation? Hur är värdena av SAA i förhållande till leukocyter, neutrofila granulocyter samt koncentrationen av haptoglobin?

2. Material och metoder

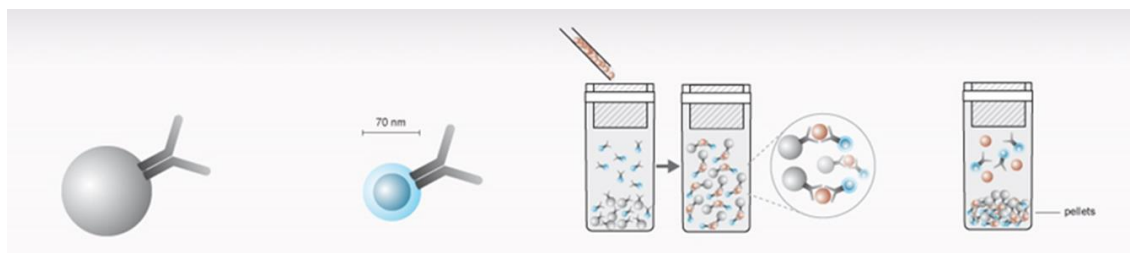
2.1. Provmaterial

För analys av SAA-koncentration hos katt insamlades blodprov från friska och sjuka katter. Djurägare med katter som inkom till Evidensia Djurklinik Malmö, där det med största sannolikhet skulle tas blodprov, fick förfrågan om att medverka i studien. EDTA-blod och serumprov användes vid analyserna. Sammanlagt 35 prover från 32 individer analyserades. Parametrar som studerades var koncentrationen av akutfasproteinen SAA och haptoglobin samt antalet leukocyter och neutrofila granulocyter. Ur journalsystemet hämtades relevant information som eventuellt sjukdomstillstånd och kroppstemperatur, puls och andningsfrekvens.

2.2. LifeAssays® Feline Serum Amyloid A Test Kit

LifeAssays® Feline Serum Amyloid A Test (Lifeassays AB-SV, Lund, Sverige) är ett *in vitro* diagnostiskt system för kvantitativ bestämning av koncentration av Serum Amyloid A (SAA) i serum från katt. Testet baseras på two-site heterogenous immunoassay (LifeAssay användarmanual). Kitet innehåller reagensvialer innehållande kiseldioxidpartiklar täckta med polyklonala antikroppar riktade mot SAA. Dessa fungerar som stationär fas i analysen. För att undvika hemolys ställs serumprovörret i kylan i ca 10 minuter. Röret centrifugeras sedan i 10 minuter vid 3850 rpm med Hettich universal 320 (Hettich Labinstrument AB, Stockholm, Sverige). Samtliga provmaterial ska vara rumstempererade innan analysstart. Reagensvialen sätts i VetReader som läser av den ursprungliga induktansen. Sedan tillsätts 20 µl serum och blandas med vortex i 30 sekunder varefter vialen sätts i VetReader inom 10 sekunder. Vid tillförsel av serum binder kiseldioxidpartiklarna in till SAA om det finns i provet. Reagensvialen innehåller även magnetiska nanopartiklar täckta med antikroppar riktade mot SAA. Nanopartiklarna binder in till SAA inbundet till kiseldioxidpartiklarna via en annat epitop

på SAAs yta och bildar tillsammans ett sandwichkomplex (figur 1). Under 11 minuters inkubering bildas komplexet och sjunker till botten av vialen. Instrumentet mäter kvantitativt sedimentets magnetiska förmåga genom att detektera den interna spolens induktansskillnad. Till varje kit medföljer ett algoritm-chip som innehåller reagensdata och algoritm som baserat på induktansskillnaden beräknar koncentrationen av SAA i mg/L i proverna inom referensramen 10 - 210 mg/L.



Figur 1. Analysprincip i LifeAssays® Feline serum amyloid A testet. Kiseldioxidpartiklar och magnetiska nanopartiklar täckta med antikroppar riktade mot SAA binder in till SAA i provet och bildar ett sandwichkomplex. Komplexet sjunker till botten av vialen och bildar ett sediment. Källa: LifeAssays ® användarmanual.

2.3. LifeAssays® Feline Haptoglobin Test Kit

LifeAssays® Feline Haptoglobin Test (Lifeassays AB-SV, Lund, Sverige) är ett *in vitro* diagnostiskt system för kvantitativ bestämning av koncentration av haptoglobin i serum från katt. Precis som Feline SAA Test Kit använder sig Feline Haptoglobin av kiseldioxidpartiklar och magnetiska nanopartiklar täckta med antikroppar, i detta fall riktade mot haptoglobin. Proven förbehandlas på samma sätt som för SAA-analysen innan 25 µl serum tillsätts till spädningsvialen som medföljer kitet. Från spädningsvialen tas 5 µl serum med hjälp av kapillärrör som medföljer kitet. Efter första induktansmätningen tillförs provet till vialen, blandas, inkuberas i 10 min och avläses så som beskrivits för SAA. Koncentrationen av haptoglobin anges som mg/100ml inom området 40 - 600 mg/100ml.

2.4. ProCyte DX® Hematology Analyzer

IDEXX ProCyte DX® Hematology Analyzer (IDEXX Laboratories Inc., Main USA) baseras på laser-flödescytometri, optisk fluorescens och impedans inducerad av laminärt flöde för att analysera beståndsdelarna i blodet hos djur. Med laser-flödescytometri genomför ProCyte DX två separata analyser; analyserar mogna röda blodkroppar, retikulocyter och trombocyter samt analys och klassificering av leukocyter.

ProCyte DX använder färgning som binder in till cellernas nukleinsyra och exciteras av rött laserljus med optisk fluorescens.

Laminär flödesimpedans analyserar storlek och antal av röda blodkroppar och trombocyter. 500 µl helblod från EDTA-provrör späds med reagens och färdas genom en detektor där den avbryter den elektriska signalen. Det inducerade motståndet fastställer cellens typ, struktur och storlek. Resultatet erhålls efter 2 minuter via en dator kopplad till ProCyte DX.

3. Resultat

Totalt insamlades 37 patientprov från 34 individer. Två prov hade för liten mängd EDTA-blod för blodcellsanalyserna och dessa uteslöts från studien. På patient nr 12 gjordes fyra enskilda mätningar som utfördes över åtta dagar. Av de 35 patientproverna kan man se att sju har förhöjda värden av SAA medan åtta prover har haptoglobinvärden över referensvärdet (tabell 1 och 2). I enbart tre prover kan man se samtidig förhöjning av SAA och haptoglobin. Korrelationen mellan SAA och övriga parametrar visade signifikant positiv korrelation med leukocyter (white blood cells förkortas WCB) och neutrofila granulocyter (förkortas NEU) men korrelerar inte till haptoglobin (tabell 3). Haptoglobin korrelerar inte heller till leukocyter och neutrofila granulocyter. SAA var förhöjt i fler fall hos sjuka katter än vad leukocyter var (tabell 1).

Tabell 1. Resultaten för SAA, haptoglobin, leukocyter (WBC) och neutrofila granulocyter (NEU) analyserade i 32 patientprover. Värden redovisade med röda siffror ligger utanför satta normalvärden.

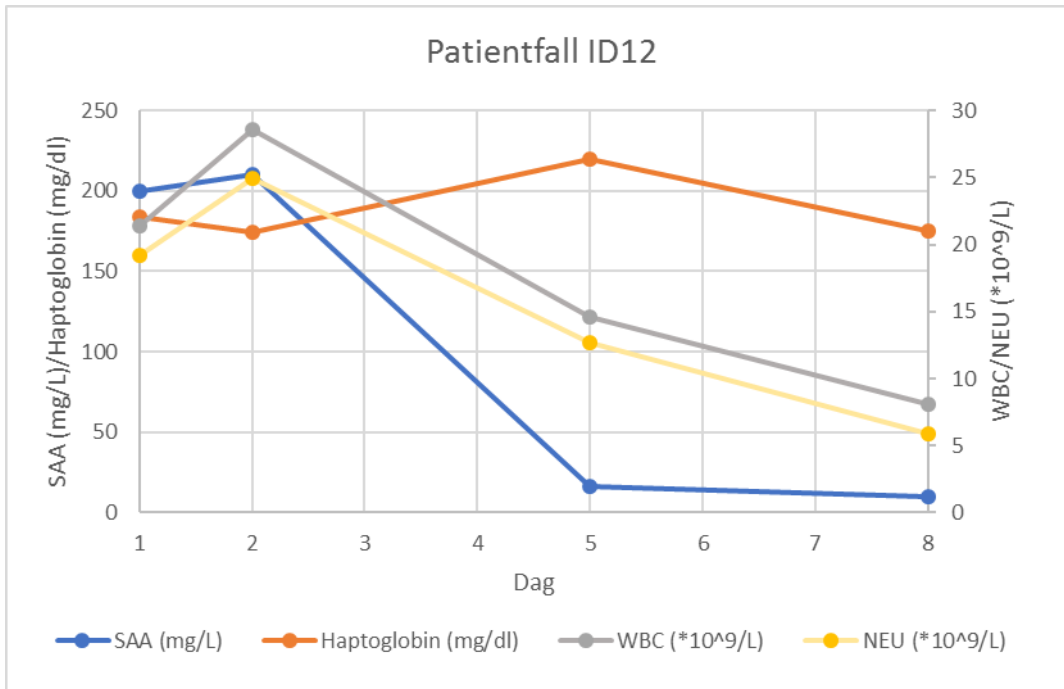
Patient	SAA (mg/L)	Haptoglobin (mg/100ml)	WBC ($\times 10^9/L$)	NEU ($\times 10^9/L$)
1	10	600	4,50	3,33
2	10	223	9,23	5,26
3	176	600	5,88	2,97
4	10	200	7,60	4,56
5	13	172	5,35	3,78
6	16	194	7,94	4,57
7	15	76	10,02	3,48
8	33	78	15,71	13,48
9	18	96	4,49	1,91
10	35	327	8,55	2,84
11	10	220	4,08	1,80
12	200	184	21,4	19,17
12	210	174	28,54	24,93
12	16	220	14,63	12,71
12	10	175	8,06	5,84
13	10	251	3,19	1,97
14	10	162	3,71	2,13
15	10	40	9,90	5,71
16	21	239	5,05	2,84
17	10	92	6,96	4,02
18	10	112	7,30	4,48
19	10	258	12,52	6,62
20	15	322	6,53	5,59
21	10	52	8,05	5,90
22	10	81	7,35	5,83
23	10	156	6,66	3,05
24	15	419	7,73	2,90
25	10	114	9,60	7,09
26	10	142	9,24	5,90
27	10	210	8,39	5,17
28	10	188	11,78	6,10
29	10	132	6,40	4,97
30	10	40	8,39	5,05
31	10	40	6,07	4,50
32	24	413	10,01	5,53

Tabell 2. Antal patientprov med resultat inom och utom referensvärdena för SAA, haptoglobin, leukocyter och neutrofila granulocyter. Proverna inkluderar här också de från fallstudien som beskrivs nedan.

	SAA (ref: <20 mg/L)	Haptoglobin (ref: <250 mg/dl)	Leukocyter (ref: 2.87 - 17.02*10 ⁹ /L)	Neutrofila granulocyter (ref: 1.48-10.29*10 ⁹ /L)
Utanför referens	7	8	2	4
Inom referens	28	27	32	31

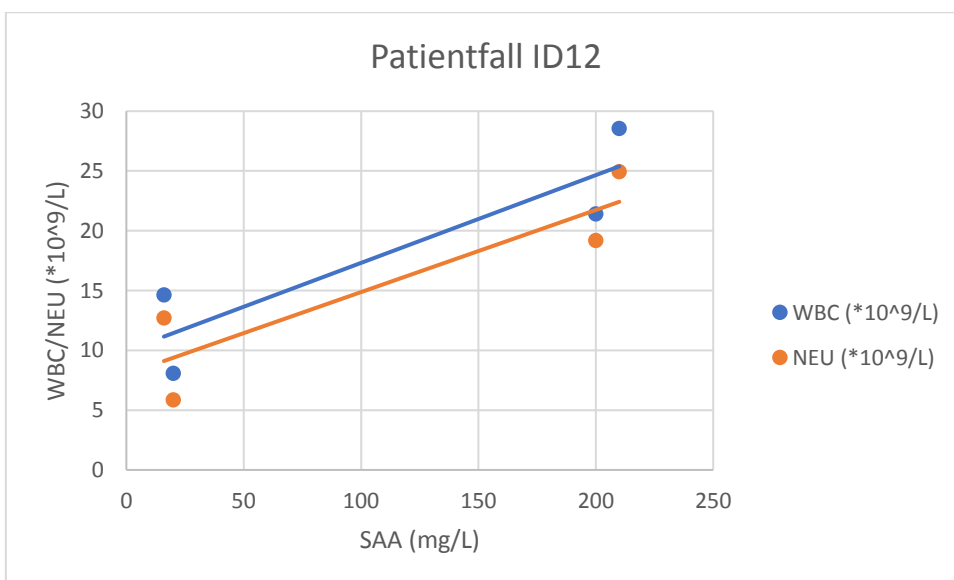
Tabell 3. Pearson korrelationsanalys visar korrelationskoefficienten och p-värdet då sambandet mellan SAA (mg/L) och de övriga parametrarna, samt haptoglobins samband med leukocyterna (WBC och NEU) testas (n=35).

	Haptoglobin	WBC	NEU
SAA (mg/l)			
korrelation	0,254	0,668	0,690
p-värde	0,141	<0,001	<0,001
Haptoglobin (mg/100ml)			
Korrelation		-0,139	-0,156
p-värde		0,427	0,372



Figur 1. Förändringen i mängd SAA, haptoglobin, leukocyter och neutrofila granulocyter över tid hos katt ID12.

Patient nr 12 hade initialt ett SAA-värde på 200 mg/l och följdes med provtagning under åtta dagars behandling och även här ser man ett samband mellan SAA och leukocytantalerna men inte med haptoglobin (figur 1). Korrelationernas R_2 -värden var för leukocyter 0,8106 och för neutrofila granulocyter 0,8112 (figur 2).



Figur 2. Korrelationen mellan SAA och leukocyter/neutrofila granulocyter från patientfall ID12.

4. Diskussion

Provresultaten är baserade på insamlade blodprov från katter av olika kön, ras, ålder och sjukdomstillstånd. Variationsbredden för SAA (range:10 – 210 mg/l) var mindre än haptoglobin (range 40 – 600 mg/100ml). Utifrån provresultaten kan man se att sju av totalt 35 prover var utanför referensen för SAA som är <20 mg/L. Av de sju patienter med förhöjda värden för SAA visade enbart tre även förhöjda värden för haptoglobin. Anledningen till detta kan bero på tidigt upptäckt sjukdomstillstånd vilket gjort att haptoglobin inte har hunnit stiga då det proteinet inte reagerar lika tidigt som SAA (Mattsson, 2014). Det gör att SAA bedöms som en tidigare markör för skada/infektion/inflammation. Precis som Kajikawa et al. (1999) och Kann et al. (2011) visar, ses en svagare samstämmighet mellan SAA och haptoglobin.

På samma sätt kan patienterna med förhöjt haptoglobin men normalt SAA förklaras med att adekvat behandling satts in och SAA har gått tillbaka till sitt normala värde, medan det tar längre tid för haptoglobin att återgå. För att säkerhetsställa detta undersöktes samtliga patienters journaler. Analysen av journalerna visade att de tre patienterna med förhöjda värden för både haptoglobin och SAA led av kroniska sjukdomstillstånd eller hade varit sjuka en längre tid, d.v.s. i mer än en vecka. Det talar för att båda akutfasproteinerna har sanna förhöjda värden vid mer varaktiga sjukdomstillstånd.

Gruppen som hade förhöjda värden av haptoglobin men SAA värden inom referensområdet bestod av fem patienter. För en av dessa togs provet vid patientens första besök, för två vid återbesök efter behandling och för ytterligare två efter långdragna lindrigare sjukdomstillstånd. Normala SAA-värdena för de två patienterna som fått behandling och var på återbesök kan tyda på att de har fått lämplig behandling.

Sammanlagt fyra patientprov hade förhöjt SAA men normalt haptoglobinvärde. Bland dessa patienter hade tre kroniska sjukdomstillstånd och en var en misstänkt pneumoni. En av patienterna kom för återbesök för diabetes mellitus och hade något förhöjt värde av SAA. Detta kan stämma då studier har visat att även icke-inflammatoriska sjukdomar som diabetes mellitus och hypertyreos kan ge upphov till förhöjda värden av SAA (Tamamoto et.al 2013).

Utifrån referensområdena som anges för leukocyter och neutrofila granulocyter sågs bara avvikande värden hos patienter som hade förhöjda SAA men inte förhöjt haptoglobin, vilket bekräftades av den signifikanta positiva korrelationen mellan SAA och parametrarna leukocyter och neutrofila granulocyter som denna studie visade. SAA var förhöjt i fler fall hos katter med patologiska tillstånd än vad leukocyter var. Detta kan indikera att SAA är en snabbare markör än leukocyter.

I planeringsstadiet av arbetet förbereddes en indelning av samtliga patienter i grupperna friska, sjuka utan systemiskt inflammationsresponssyndrom (SIRS) och sjuka med SIRS. SIRS och är ett tillstånd då kraftig inflammation påverkar hela djuret (Nationalencyklopedin, 2017). SIRS associeras med många sjukdomar, bland annat trauma, brännskador, sepsis och större operationsingrepp (Randels, 2013). En sådan indelning efter SIRS hade varit värdefullt för att kunna bedöma om akutfasproteinerna kan indikera SIRS. Detta blev tyvärr inte möjligt då de flesta patienters tillstånd inte uppfyllde kriterierna för en sådan gruppindelning.

Däremot kunde inflammationsmarkörerna testas mer ingående på en fallstudie. En 9-årig honkatt (ID 12) med kronisk njursvikt under behandling, inkom akut på grund av trötthet, svaghet och inappetenz. Patienten skrevs in för understödande behandling. Urinanalysen visade på urinvägsinfektion och blodprover visade höga värden för kreatinin, men med lindrigt förhöjda leukocyter. Blodprover analyserades dag ett, två, fem och åtta. Dag två sattes behandling in för akut pyelonefrit. I figur 2 ses hur värdena ökade och var som högst dag två för att sedan sjunka. Antalet neutrofila granulocyter var fortfarande över referensvärdet dag fem medan SAA och totalantalet leukocyter sjunkit till värden inom referenserna. På återbesöket dag åtta är samtliga parametrar inom referensområdena. Precis som i liknande fall-studier, visar den sjunkande koncentrationen av SAA hos ID12 kattens respons på behandling (Tamamoto et.al 2009). Det indikerar att SAA kan vara en tillförlitlig markör för att följa behandlingsresultat

Vid alla analyser och mätningar finns en risk för preanalytiska fel som kan påverka resultaten. För att undvika detta kördes det kontroll på IDEXX ProCyte® Hematology Analyser dagligen. För varje LifeAssays® Feline Haptoglobin Test Kit medföljde en kontrollvätska som mättes för att fastställa att analysreagensen fungerade. Stickprov gjordes bland proverna för extern kontroll av SAA och haptoglobin med ELISA metod.

Serumprover från varje patient frystes in i väntan på eventuell kontrollkörning på externt laboratorium. Därmed anses inte provsvaren ha varit nämnvärt påverkade av preanalytiska fel.

5. Slutsats

Signifikant positiv korrelation mellan feline SAA och leukocyter/neutrofila granulocyter visar att parametrarna följer varandra vid både ökning och sänkning. Korrelationen mellan SAA och haptoglobin är svagare. Flertalet fall med katter med patologiska tillstånd där SAA var förhöjt men leukocyter var inom referensen talar för att SAA är en snabbare markör än leukocyter. Studien har visat att SAA kan fungera som en tidig biomarkör för identifiering av patologiska tillstånd samt för att monitorera hur väl en terapi mot en pågående infektion fungerar. Det hade varit intressant att fortsätta studien och inkludera fler patienter med avseende på om dessa har systemisk inflammation eller inte för att på detta sätt evaluera SAA som bio-markör för SIRS.

Tackord

Jag vill tacka min handledare Dusan Jankovic och Filiz Ibraimi för ideén om arbetet och er kunskap och synpunkter. Min skrivhandledare Bodil Hernroth vill jag tacka för all hjälp, tips och stöd under arbetets gång.

Tack till Gertrud Danielsson för all din kunskap och stöd.

Tack till Maria Gullberg för dina insikter och hjälp.

Tack även till all personal på Evidensia Djurklinik Malmö för hjälp med insamling av patientprover.

Slutligen vill jag tacka min familj för allt stöd!

Referenser

Cerón, J. J., Eckersall, P. D. & Martínez-Subiela, S. (2005). Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, 34/2, ss. 85-99. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2005.tb00019.x.

Estensson, A. M. (2012). *Betydelsen av koncentrationen av serum amyloid A (SAA) hos katt vid diagnostik av feline infektiös peritonit (FIP)*. Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet. <http://stud.epsilon.slu.se/4212/>

Gómez-Laguna, J., Salguero, F. J., Pallarés, F. J., Rodríguez-Gómez, I. M., Barranco, I. & Carrasco, L. (2011). Acute Phase Proteins as Biomarkers in Animal Health and Welfare, *InTech*, ss. 259-280. DOI: 10.5772/19166.

Kajikawa, T., Furuta, A., Onishi, T., Tajima, T. & Sugii, S. (1999). Changes in concentrations of serum amyloid A protein, α_1 -acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 63, ss. 91-98. DOI: 10.1016/S0165-2427(99)00012-4.

Kann, R. K. C., Seddon, J. M., Henning, J. & Meers, J. (2011). Acute phase proteins in healthy and sick cats. *Research in Veterinary Science*, 93, ss. 649-654. DOI: 10.1016/j.rvsc.2011.11.007.

Mattson, J. (2014). *Evaluation of in vitro diagnostic (point-of-care) system for quantification of the acute phase protein haptoglobin in cats*. Göteborg: Göteborgs Universitet. <http://www.lifeassays.com/feline-studies-documents/>

Nationalencyklopedin (2017). *SIRS*.

<http://www.ne.se.ezproxy.hkr.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/sirs> [2017-02-15]

Randels, A. (2013). Systemic inflammatory response syndrome. *Veterinary Technician*, 32(2), ss E1-E7.

Tamamoto, T., Ohno, K., Ohmi, A., Goto-Koshino, Y., Tsujimoto, H. (2008). Verification of measurement of the Feline serum amyloid A (SAA) concentration by Human SAA turbidimetric immunoassay and Its Clinical application. *The journal of Veterinary Medical Science*, 70 (11), ss. 1247-1252.

Tamamoto, T., Ohno, K., Ohmi, A., Seki, I. & Tsujimoto, H. (2009). Time-course monitoring of serum amyloid A in a cat with pancreatitis. *Veterinary Clinical Pathology*, 38(1), ss. 83-86. DOI: 10.1111/j.1939-165X.2008.00082.x.

Tamamoto, T., Ohno, K., Takahashi, M., Nakashima, K., Fujino, Y., Tsujimoto, H. (2013). Serum amyloid A as a prognostic marker in cats with various diseases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(3), ss, 428-432.