

Validatie van de Soxtec 8000 voor de vetbepaling in gelyofiliseerd fecesstaal collectie van 72 uur

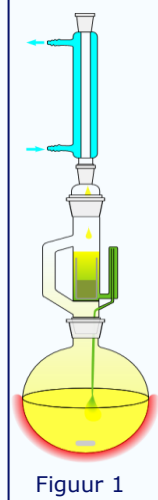
L. Michiels, ing. E. Houben, H. Ceulemans, N. Pieters, S. Willebrords, C. Dewit, prof. K. Verbeke
UZ Leuven Absorptie en Digestie

Inleiding

Steatorree is een vorm van diarree met een ongewoon hoog vetpercentage. Dit kan komen door maldigestie of malabsorptie. Bij maldigestie kan het gaan over exocriene pancreasinsufficiëntie. Bij malabsorptieve oorzaken zijn voornamelijk mucosale pathologieën zoals de ziekte van Crohn en coeliakie de boosdoeners.

De Soxtec 8000 (Foss, Denenmarken) werkt op basis van de soxhletextractie. In een cellulosehimble wordt gelyofiliseerd fecesstaal toegevoegd. In de solventbeker komt er petroleumether bij en deze wordt verwarmd tot het kookpunt. Bij de condensor zal het terug vloeibaar worden en druppelen in de cellulosehimble. Als de sifon vol is, zal de petroleumether en het opgeloste vet terugvloeien naar de solventbeker. Deze cyclus wordt voor enkele uren herhaald.

Het doel is om de Soxtec8000 te valideren voor de bepaling van de hoeveelheid vet per dag in een aliquot van gelyofiliseerde fecesstaal van 72-uur-collectes.



Figuur 1

Materiaal en Methode

De 72-uurcollectes werden ontdooid. Indien nodig werd water toegevoegd voor homogenisatie (Stomacher 3500, Seward, Engeland). Na homogenisatie werd een aliquot genomen en gelyofiliseerd (FREEZE DRYER ALPHA 1-4 LSC, Analis, België). Na afwegen van de lege solventbekers werd 0,2000g staal afgewogen in cellulose thimbles. De interne kwaliteitscontrole (IQC) was 100µL olijfolie. Vervolgens werd 70mL petroleumether gepipetteerd over de thimbles.

Na opstarten was eerst een kookstap op 120°C voor een uur. Dan gebeurde een spoelingsstap op 120°C voor twee uur en daarna nog een recuperatiestap van het solvent. Na overnacht te drogen in de open lucht werden de solventbekers met het geëxtraheerde vet afgewogen. Het recuperatiepercentage van de IQC werd berekend met de formule: $\frac{m_{olie\ na\ extractie}}{olie\ voor\ extractie} \times 100(\%)$. De grenswaarde waren 85% en 115%

andere werd de extractie volledig herhaald. Bij goede IQC werd het vetgehalte berekend met de formule: $\frac{(m_{collechte} + m_{water}) \cdot \frac{m_{na\ extractie}}{alligot\ na\ lyofilisatie}}{3}$

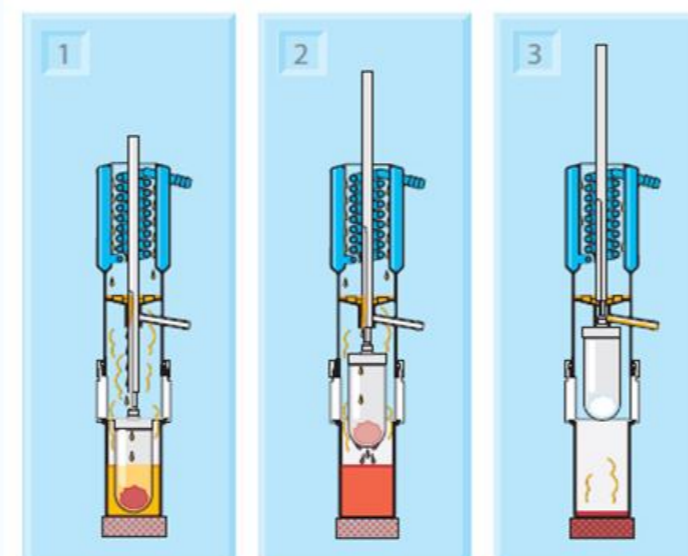
De referentiewaarden voor steatorree bij kinderen jonger dan 4 maanden was minder dan 4g/dag. Vanaf 4 maanden was de referentiewaarde minder dan 3g/dag. De referentiewaarde voor volwassenen was 7g/dag.

De validatie was driedelig.

De accuraatheid werd gemeten door een externe kwaliteitscontrole (EQC) die al geanalyseerd was door het referentietoestel (Soxtec2050) te vergelijken met de Soxtec8000. De waarde van de Soxtec8000 moest binnen de 2 standaarddeviaties liggen van het rapport van de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek (SKML) om acceptabel te zijn.

Voor de precisie werden er op drie niveaus in duplo over vier dagen metingen uitgevoerd. De niveaus waren: minder dan 5g/dag, tussen de 5 en 9g/dag en meer dan 9g vet/dag. De CV werd berekend dag tot dag en in totaal. De grenswaarde van staal P1 was minder dan 20% en voor de andere minder dan 5%.

Bij de methodevergelijking werden 20 stalen genomen die al geanalyseerd waren door de Soxtec2050. Deze werden terug gemeten met de Soxtec8000. Hiervan werd een weighted deming regressie opgesteld. De correlatiecoëfficiënt moest hoger zijn dan 0.8 en de richtingscoëfficiënt tussen de 0.8 en 1.2.



Figuur 2: Programma van Soxtec 8000

Resultaten

Tabel1: Grenswaarden voor accuraatheid bepaald m.b.v. het rapport van de Stichting Kwaliteitsbewaking Medische Laboratoriumdiagnostiek

Staal	Waarden(g vet/100g)	CV	Waarden-2SD	Waarden+2SD
A1	4,1	0,17	2,7	5,5
A2	9,7	0,17	6,4	13
A3	2,2	0,2	1,3	3,1

Tabel2: Hoeveelheid vet per 100 gram gemeten met de Soxtec8000 voor accuraatheid

Nummer	Waarden(g vet/100g)
A1	4,9
A2	12,4
A3	3,0

Voor de accuraatheid werden gemeten waarden met de Soxtec8000 in Tabel2 vergeleken met de grenswaarden in Tabel1.

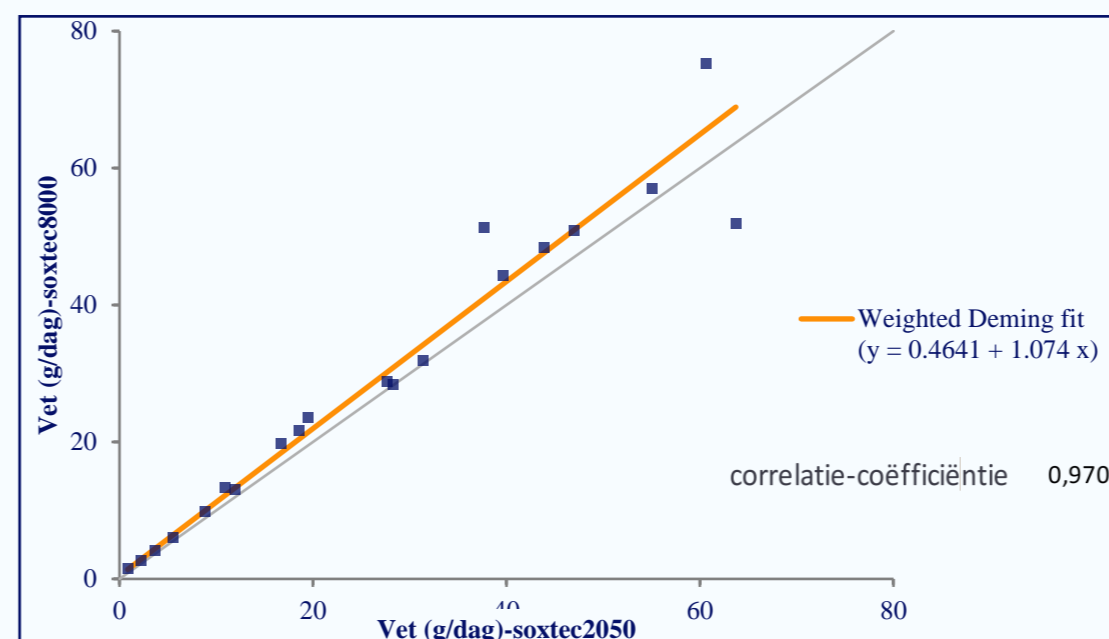
Tabel3: Gemeten stalen voor precisie op de Soxtec2050

Staal	range	Waarden(g vet/dag)
P1	<5g vet/ dag	1,69
P2	5-9 g vet/dag	7,56
P3	>9 gvet/dag	33,06

Tabel4: Gemeten stalen voor precisie op de Soxtec 8000 over vier dagen

CV	P1(%)	P2(%)	P3(%)
CV _{tot}	27,87%	19,32%	22,61%
CV _{sd}	21,03%	18,09%	19,11%

In Tabel3 waren de referentiestalen voor precisie weergegeven en gemeten vetwaarde met de Soxtec2050. In Tabel4 waren de bekomen CV's te zien van de Soxtec8000.



Figuur 2: Methode weighted deming grafiek te vergelijking van de Soxtec2050 en de Soxtec 8000.

De weighted deming regressie werd opgesteld, rekening houdende met de CV tussen de toestellen. De regressie hield ook rekening met de CV tussen de stalen van elke methode. Voor de Soxtec2050 werd 4% genomen en voor de Soxtec8000 16%.

Discussie

De acceptatiecriteria van de accuraatheid en methodevergelijking waren behaald. Bij de precisie niet door weegfouten veroorzaakt door snelle TAT. Het experiment werd herhaald. De IQC werd opgevolgd.

Conclusie

Door de accuraatheid en methodevergelijking is de Soxtec8000 voorlopig gevalideerd. Door de precisieherhaling, worden alle stalen van 4 tot 10g/dag herhaald en moeten deze een CV hebben lager dan 10%.