

Test Catalyst® Lipasi Pancreatica: un test in clinica quantitativo della lipasi pancreatica per cani e gatti.

Introduzione

La diagnosi di pancreatite in cani e gatti può essere complessa a causa dei segni clinici aspecifici e talvolta lievi associati a questa malattia. Al fine di ottenere tale diagnosi, i veterinari devono basarsi su anamnesi, segni clinici, risultati di laboratorio e diagnostica per immagini.^{1,2} Gli enzimi digestivi amilasi e lipasi sono stati utilizzati come markers di pancreatite, ma la loro utilità diagnostica è limitata a causa della presenza di amilasi e lipasi di origine extrapancreatica (per esempio gastrica o epatica). Spec cPL® e Spec fPL® (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine) sono test immunologici, validati in letteratura, che misurano nello specifico la lipasi di origine pancreatica.^{3,4}

Il test Catalyst® Lipasi Pancreatica è un test* appositamente ideato per essere conforme ai test Spec cPL e Spec fPL e fornire risultati quantitativi della lipasi pancreatica per cani e gatti direttamente in clinica. Il test Catalyst Lipasi Pancreatica è in grado di misurare un ampio intervallo di valori (cane 30-2000 U/L; gatto 0,5-50 U/L) e consente la misurazione della lipasi pancreatica nel siero o nel plasma con litio eparina (o nel sangue intero usando il separatore di sangue intero con litio eparina), in meno di 10 minuti.

Gli scopi del presente studio erano di: comparare la performance del test Catalyst Lipasi Pancreatica con i test Spec cPL e Spec fPL, valutare la precisione del test, esaminare l'influenza delle comuni sostanze interferenti e valutare la specificità del test Catalyst Lipasi Pancreatica per la lipasi pancreatica in una popolazione di cani pastori tedeschi (German shepherd dogs, GSD) con insufficienza pancreatica esocrina (EPI).

Materiali e metodi

Confronto dei metodi

Sono stati analizzati 193 campioni di siero canino e 216 campioni di siero felino, inizialmente inviati ai laboratori di riferimento IDEXX per analisi e poi elaborati, in conformità ai termini e alle condizioni del laboratorio. I campioni sono stati analizzati una volta con il test Catalyst Lipasi Pancreatica su un analizzatore biochimico Catalyst One® e sei volte utilizzando i test Spec cPL (campioni canini) e Spec fPL (campioni felini). I risultati di ciascun test Catalyst Lipasi Pancreatica sono stati confrontati con la concentrazione media ottenuta con Spec cPL e Spec fPL. Sono stati creati grafici di correlazione con il calcolo del valore r e della pendenza. I risultati di ciascun metodo sono stati assegnati a una delle tre categorie in base ai criteri interpretativi dei test (come indicato nelle tabelle 1 e 2).

Precisione

La precisione è stata valutata utilizzando campioni di controllo con diverse concentrazioni corrispondenti ai risultati alto, medio e basso per ciascuna specie. Tutte le concentrazioni sono state valutate otto volte al giorno per 10 giorni su ciascuno dei due analizzatori biochimici Catalyst One® e dei due analizzatori biochimici Catalyst Dx®. I risultati di un campione felino sono stati esclusi a causa della mancanza di un risultato dovuto a un errore di uno degli analizzatori. Il coefficiente di variazione (CV) totale è stato calcolato dividendo la deviazione standard per la concentrazione media.

Sostanze interferenti

L'interferenza causata dalla presenza di emoglobina, lipidi o bilirubina è stata valutata secondo le linee guida del metodo CLSI EP07-A2.⁵ I campioni di siero canino e felino, che erano visibilmente liberi da sostanze interferenti, sono stati raccolti, uniti e miscelati con concentrazioni variabili di lipasi pancreatica canina o felina. Emolisato di globuli rossi canini, Intralipid® e ditaurobilirubina⁸ sono stati utilizzati per esaminare il potenziale impatto rispettivamente di emolisi, lipemia e ittero. Aliquote dei campioni limpidi sono state preparate e miscelate con concentrazioni variabili delle sostanze interferenti (come indicato nelle tabelle 3 e 4). Ogni aliquota è stata quindi analizzata da sedici a trentasei volte su un analizzatore Catalyst One.

Valutazione della specificità in una popolazione di cani con EPI

Un metodo per valutare la specificità del test della lipasi consiste nel misurare l'analita in una popolazione di animali in cui sono attese concentrazioni di lipasi pancreatica estremamente basse, ad esempio nei cani pastori tedeschi (GSD) con insufficienza pancreatica esocrina (EPI). L'EPI causa una ridotta produzione e secrezione degli enzimi digestivi da parte del pancreas esocrino. Alcuni GSD hanno una patologia ereditaria, l'atrofia acinosa pancreatica, che conduce all'EPI.⁶ La misurazione di una quantità significativa di lipasi in questa popolazione sarebbe quindi indicativa del rilevamento di lipasi di origine extra pancreatica.

Sono stati individuati quaranta campioni (inizialmente inviati ai laboratori di riferimento IDEXX per analisi) di siero di GSD con un risultato del test TLI (trypsin-like immunoreactivity) su siero inferiore a 1 µg/L. Tali campioni sono stati analizzati con il test Catalyst® Lipasi Pancreatica (4 volte), il test Spec cPL® (6 volte) e un test per la lipasi 1,2 digliceridi (2 volte).¹ Sono stati quindi calcolati i valori medi dei risultati, per ciascun campione analizzato.

Risultati

Confronto dei metodi

I risultati dimostrano un'eccellente correlazione tra il test Catalyst Lipasi Pancreatica e i test Spec cPL e Spec fPL® (come indicato nelle figure 1 e 2). I due metodi hanno presentato una forte concordanza ai fini della classificazione dei risultati in una delle tre categorie in base ai criteri interpretativi dei test.

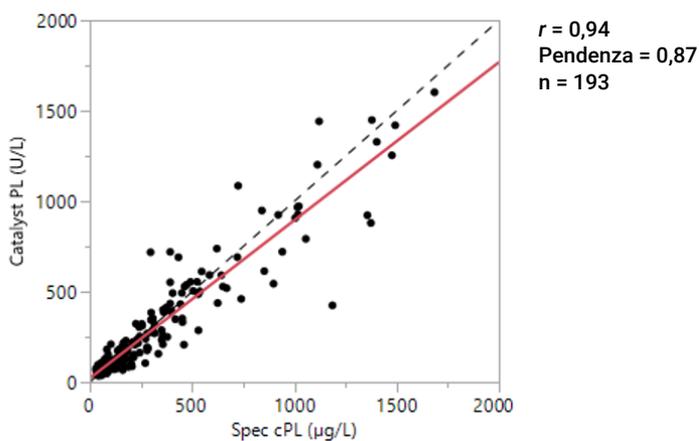


Figura 1: Grafico di correlazione dei confronti accoppiati delle concentrazioni dei test Catalyst Lipasi Pancreatica (LP) e Spec cPL nei campioni canini. La linea di adattamento ottimale (regressione lineare) per i dati è mostrata sul grafico (linea continua) con la pendenza e il valore r . $x = y$ viene mostrato come una linea tratteggiata nel grafico.

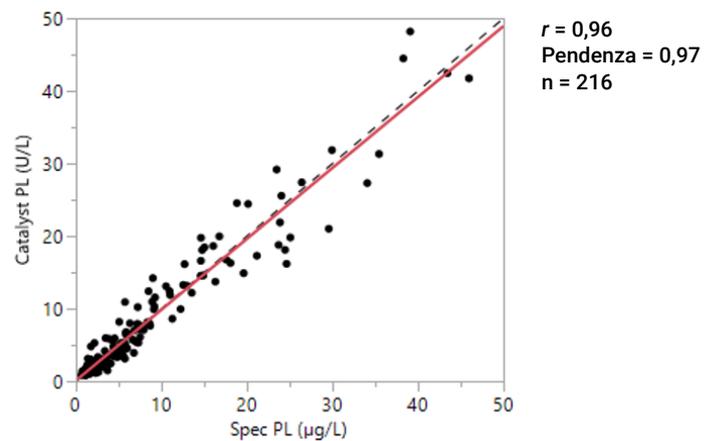


Figura 2: Grafico di correlazione dei confronti accoppiati delle concentrazioni dei test Catalyst Lipasi Pancreatica (LP) e Spec fPL nei campioni felini. La linea di adattamento ottimale (regressione lineare) per i dati è mostrata sul grafico (linea continua) con la pendenza e il valore r . $x = y$ viene mostrato come una linea tratteggiata nel grafico.

		Spec cPL		
		≤200 µg/L	201-399 µg/L	≥400 µg/L
Catalyst LP	≤200 U/L	51.4%	6.2%	0.0%
	201-399 U/L	1.8%	13.0%	2.8%
	≥400 U/L	0.0%	4.5%	20.4%

Tabella 1: Tabella di contingenza per i campioni canini. $n = 193$; concordanza complessiva = 84,8%.

		Spec fPL		
		≤4,4 µg/L	4,5-8,7 µg/L	≥8,8 µg/L
Catalyst LP	≤4,4 U/L	52.7%	8.1%	0.0%
	4,5-8,7 U/L	2.7%	14.2%	0.4%
	≥8,8 U/L	0.0%	1.4%	20.5%

Tabella 2: Tabella di contingenza per i campioni felini. n = 216; concordanza complessiva = 87,5%.

Precisione

I risultati dello studio della precisione sono riportati nelle tabelle 3 e 4. Il test Catalyst® Lipasi Pancreatica ha mostrato un coefficiente di variazione (CV) totale <10% a tutte le concentrazioni e in entrambe le specie, indicativo di una precisione del test ottimale.

Specie	Analizzatore	Concentrazione media Catalyst LP (U/L)	Deviazione standard (U/L)	% CV	Osservazioni
Canina	Analizzatore biochimico Catalyst Dx®	249	11	4.4	160
		580	24	4.2	160
		1339	118	8.8	160
	Analizzatore biochimico Catalyst Dx®	239	9	3.9	160
		561	19	3.4	160
		1338	38	2.8	160

Tabella 3: Sintesi dei risultati dello studio sulla precisione nei campioni canini.

Specie	Analizzatore	Concentrazione media Catalyst LP (U/L)	Deviazione standard (U/L)	% CV	Osservazioni
Felina	Analizzatore biochimico Catalyst Dx®	3.9	0.3	6.6	160
		5.3	0.4	8.5	159
		14.0	0.9	6.5	160
	Analizzatore biochimico Catalyst Dx®	3.7	0.2	5.9	160
		5.1	0.3	6.0	160
		13.9	0.7	5.0	160

Tabella 4: Sintesi dei risultati dello studio sulla precisione nei campioni felini.

Sostanze interferenti

Nei campioni lipemici o itterici non è stata osservata alcuna interferenza. È possibile osservare interferenze che determinano una riduzione della concentrazione di Catalyst LP nei campioni con emolisi da moderata a marcata (≥ 250 mg/dl).

I risultati dello studio delle sostanze interferenti sono indicati nelle tabelle 5 e 6.

Interferenze nei campioni canini					
Emolisi		Lipemia		Ittero	
Concentrazione di emoglobina (mg/dL)	Concentrazione media di Catalyst LP (U/L)	Concentrazione di Intralipid® (mg/dL)	Concentrazione media di Catalyst LP (U/L)	Concentrazione di ditauobilirubina (mg/dL)	Concentrazione media di Catalyst LP (U/L)
21	500	0	536	0	491
193	467	125	537	2	492
256	450	250	527	5	490
559	399	500	482	15	502

Tabella 5: Sintesi dei risultati dello studio sulle sostanze interferenti nei campioni canini.

Interferenze nei campioni felini					
Emolisi		Lipemia		Ittero	
Concentrazione di emoglobina (mg/dL)	Concentrazione media di Catalyst LP (U/L)	Concentrazione di Intralipid® (mg/dL)	Concentrazione media di Catalyst LP (U/L)	Concentrazione di ditauobilirubina (mg/dL)	Concentrazione media di Catalyst LP (U/L)
34	7.7	0	7.7	0	7.8
165	6.8	125	7.2	2	8.3
290	6.5	250	7.5	5	8.1
584	5.8	500	7.0	15	8.1

Tabella 6: Sintesi dei risultati dello studio sulle sostanze interferenti nei campioni felini.

Valutazione della specificità in una popolazione di cani con EPI

I risultati dei test Catalyst® Lipasi Pancreatica e Spec cPL® sui GSD con EPI si sono rivelati bassi, e la maggior parte dei campioni era al limite o sotto il limite inferiore di quantificazione dei test (Catalyst LP <30 U/L; Spec cPL <30 µg/L). La lipasi misurata con il metodo 1,2-digliceridi ha dimostrato valori variabili all'interno dell'intervallo di riferimento, verosimilmente dovuti al rilevamento di attività di lipasi di origine extra pancreatica.

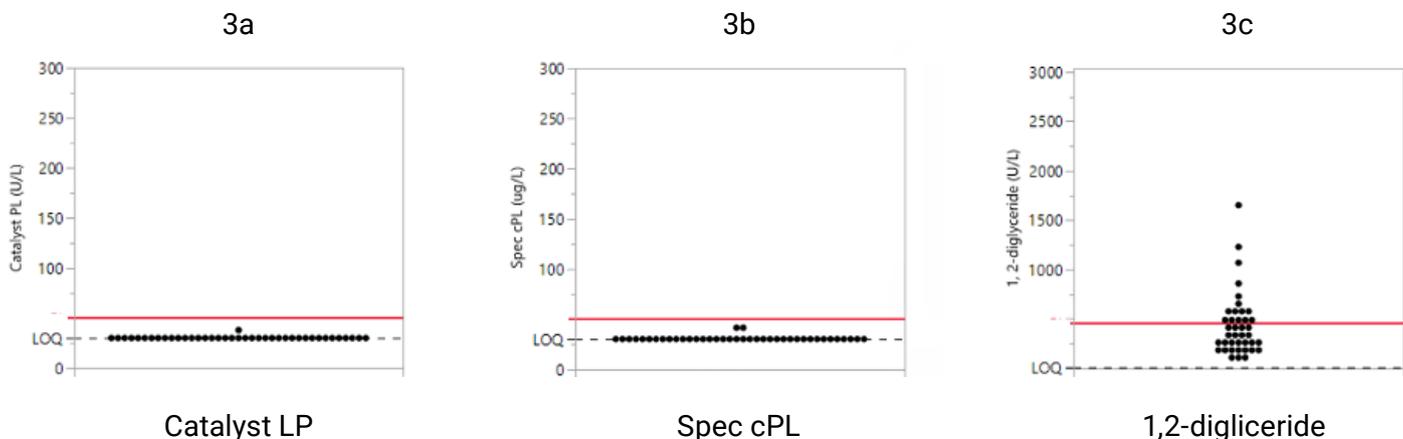


Figura 3a: Risultati del test Catalyst Lipasi Pancreatica su campioni di GSD con EPI. Il 100% dei campioni si è posizionato nel quarto inferiore (25%) dell'intervallo di riferimento. La linea rossa indica il 25% dell'intervallo di riferimento (RI ≤ 200 U/L).

Figura 3b: Risultati del test Spec cPL su campioni di GSD con EPI. Il 100% dei campioni si è posizionato nel quarto inferiore (25%) dell'intervallo di riferimento. La linea rossa indica il 25% dell'intervallo di riferimento (RI ≤ 200 µg/L).

Figura 3c: Risultati del metodo lipasi 1,2-digliceridi su campioni di GSD con EPI. Il 62,5% dei campioni si è posizionato nel quarto inferiore (25%) dell'intervallo di riferimento. La linea rossa indica il 25% dell'intervallo di riferimento (RI 200-2800 U/L).#

Conclusioni

Il test Catalyst® Lipasi Pancreatica fornisce ai veterinari un'analisi, in clinica, quantitativa e precisa della lipasi pancreatica, e mostra una buona correlazione con i test Spec cPL® e Spec fPL®. È consigliabile utilizzare sempre la stessa metodologia nel monitoraggio della lipasi pancreatica nel tempo, al fine di ottenere una valutazione accurata del paziente. I risultati del test Catalyst Lipasi Pancreatica possono essere influenzati da campioni con livelli di emolisi da moderati a marcati. La valutazione dei risultati della lipasi mediante 3 diversi metodi in una popolazione di GSD con EPI, ha evidenziato che il test Catalyst Lipasi Pancreatica è da considerarsi altrettanto specifico quanto il test Spec cPL.

*Il test Catalyst Lipasi Pancreatica utilizza come substrato il DGGR o estere 1,2-o-dilauril-rac-glicerolo-3-acido glutarico- (6'-metilresorufin).

†Lisato da globuli rossi canini lavato in soluzione salina e lisato in acqua senza tensioattivo.

‡Intralipid® (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA), un olio di semi di soia stabilizzato con fosfolipidi.

§Bilirubina coniugata (Scripps Laboratories, San Diego, California, USA; codice catalogo: B0114), ditaurobilirubina sintetica.

*Vitros® slide biochimica per lipasi, codice di riferimento 166 8409, eseguita sul sistema biochimico Vitros® 350, QuidelOrtho Corporation, San Diego, California USA.

#intervallo di riferimento per lipasi 1,2-digliceridi, stabilito per il test Catalyst Lipasi Pancreatica.

Riferimenti bibliografici

1. Forman MA, Steiner JM, Armstrong PJ, et al. ACVIM consensus statement on pancreatitis in cats. *J Vet Intern Med.* 2021;35(2):703–723. doi:10.1111/jvim.16053
2. Cridge H, Twedt DC, Marolf AJ, Sharkey LC, Steiner JM. Advances in the diagnosis of acute pancreatitis in dogs. *J Vet Intern Med.* 2021;35(6):2572–2587. doi:10.1111/jvim.16292
3. Huth SP, Relford R, Steiner JM, Strong-Townsend MI, Williams DA. Analytical validation of an ELISA for measurement of canine pancreas-specific lipase: Canine pancreas-specific lipase ELISA. *Vet Clin Pathol.* 2010;39(3):346–353. doi:10.1111/j.1939-165X.2010.00245.x
4. Forman MA, Robertson JE, Shiroma JT, et al. Measurement of feline-specific pancreatic lipase aids in the diagnosis of pancreatitis in cats. *JAVMA.* 2024;262(1):42–52. doi:10.2460/javma.23.02.0105
5. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline—Second Edition.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. CLSI document EP07-A2.
6. Steiner J. Exocrine Pancreatic Insufficiency and Rare Conditions of the Exocrine Pancreas. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 9th ed. Elsevier; 2024:1875–1879.