

Catalyst® Pancreatic Lipase: dostępny do badania na miejscu, test ilościowy lipazy trzustkowej dla psów i kotów.

Wprowadzenie

Rozpoznanie zapalenia trzustki u psów i kotów może stanowić wyzwanie ze względu na niespecyficzne i często słabo wyrażone objawy kliniczne tej choroby. Lekarze weterynarii muszą polegać na połączeniu wywiadu, objawów klinicznych, wyników badań laboratoryjnych i diagnostyki obrazowej.^{1,2}

Enzymy trawienne amylaza i ogólna lipaza są wykorzystywane jako biomarkery zapalenia trzustki, ale ich użyteczność diagnostyczna jest ograniczona przez wpływ innych niż trzustkowe źródła enzymów (np. żołądka, wątroby). Testy Spec cPL® i Spec fPL® (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine) są testami immunologicznymi, które specyficznie mierzą lipazę pochodzenia trzustkowego i zostały zwalidowane w recenzowanej literaturze.^{3,4}

Catalyst® Pancreatic Lipase to test aktywności* zaprojektowany specjalnie aby pokrywać się z wynikami Spec cPL i Spec fPL w celu zapewnienia ilościowych wyników lipazy trzustkowej jeszcze w czasie wizyty w gabinecie dla psów i kotów. Catalyst Pancreatic Lipase Test ma szeroki zakres dynamiczny (psy 30-2000 U/l; koty 0,5-50 U/l) i zapewnia wyniki w ciągu 10 minut w próbkach z surowicy lub osocza (lub krwi pełnej przy użyciu separatora krwi pełnej z heparyną litową).

Poniższe badanie miało na celu porównanie wydajności testu Catalyst Pancreatic Lipase z testami Spec cPL i Spec fPL, ocenę precyzji testu, wpływu typowych substancji zakłócających oraz ocenę swoistości testu Catalyst Pancreatic Lipase dla lipazy trzustkowej w populacji owczarków niemieckich (GSD) z zewnątrzwydzielniczą niewydolnością trzustki (EPI).

Materiały i metody

Porównanie metod

Sto dziewięćdziesiąt trzy próbki surowicy psów i 216 próbek surowicy kotów, pierwotnie przesłanych do Laboratoriów Referencyjnych IDEXX w celach klinicznych, uzyskano zgodnie z regulacjami i przepisami laboratoryjnymi. próbki poddano jednokrotnej analizie za pomocą testu Catalyst Pancreatic Lipase na analizatorze Catalyst One®. Sześć replik (powtórzeń) każdej próbki wykonano również w testach Spec cPL (próbki psów) i Spec fPL (próbki kotów). Wynik każdego testu lipazy trzustkowej Catalyst został sparowany ze średnią wartością Spec cPL i Spec fPL dla odpowiedniej próbki. Utworzono wykresy

korelacji z obliczeniem wartości r i nachylenia. Wyniki z każdej metody zostały przypisane do jednej z trzech kategorii w oparciu o wartości graniczne stosowane do medycznej interpretacji testów (jak pokazano w tabelach 1 i 2). Klasyfikacje zostały następnie porównane w tabeli kontyngencji dla każdego gatunku.

Precyzja

Precyzję oceniano poprzez wielokrotną analizę płynów kontrolnych w stężeniach reprezentujących wysokie, średnie i niskie wyniki dla każdego gatunku. Każdy płyn był analizowany osiem razy dziennie przez 10 dni na każdym z dwóch Catalyst One® i dwóch Catalyst Dx®. Wyniki jednej próbki pobranej od kota zostały wykluczone ze względu na tłumienie wyników spowodowane błędem urządzenia. Całkowity procentowy współczynnik zmienności (CV) obliczono jako stosunek odchylenia standardowego do średniej stężenia.

Substancje zakłócające

Zakłócenia powodowane przez hemoglobinę, lipidy lub bilirubinę zostały ocenione zgodnie z wytycznymi CLSI EP07-A2.5. próbki surowicy psów i kotów, które były wyraźnie wolne od czynników zakłócających, zostały zebrane, połączone i wzbogacone różnymi stężeniami rekombinowanej lipazy trzustkowej psów lub kotów. Hemolizat czerwonych krwinek psów[†], Intralipid®[‡] i ditaurobilirubina[§] zostały użyte do zbadania potencjalnego wpływu, odpowiednio: hemolizy, lipemii i żółtaczki. Połączone próbki podzielono na mniejsze i dodano do nich różne stężenia substancji zakłócających (jak pokazano w tabelach 3 i 4). Następnie każdą z nich badano od szesnastu do trzydziestu sześciu razy na analizatorze Catalyst One.

Ocena swoistości w populacji psów z EPI

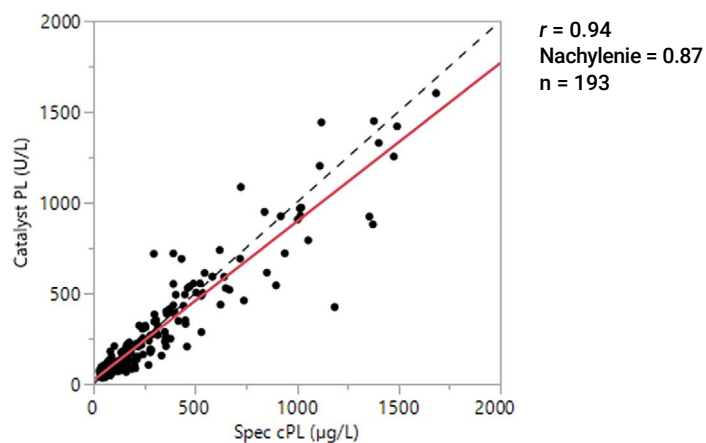
Jedną z metod oceny swoistości testu lipazy jest pomiar lipazy w populacji zwierząt, u których spodziewane jest wyjątkowo niskie stężenie lipazy trzustkowej, takich jak owczarki niemieckie (GSD) z zewnątrzwydzielniczą niewydolnością trzustki (EPI). EPI powoduje zmniejszoną produkcję i wydzielanie enzymów trawiennych przez trzustkę. Niektóre GSD mają dziedziczną cechę, atrofie komórek pęcherzykowych trzustki, która prowadzi do EPI.⁶ Pomiar znacznych ilości lipazy w tej populacji sugeruje pomiar lipazy pochodzenia pozatrzustkowego.

Z próbek pierwotnie przesłanych do Laboratoriów Referencyjnych IDEXX do celów klinicznych uzyskano czterdzieści próbek surowicy od GSD z wynikiem testu immunoreaktywności białek podobnych do trypsyny w surowicy (TLI) poniżej 1 µg/l. Próbki analizowano za pomocą testu lipazy trzustkowej Catalyst® (4 powtórzenia), testu Spec cPL® (6 powtórzeń) i testu lipazy 1,2-diglicerydowej (2 powtórzenia).[†]W analizie wykorzystano średnią z wyników dla każdej próbki.

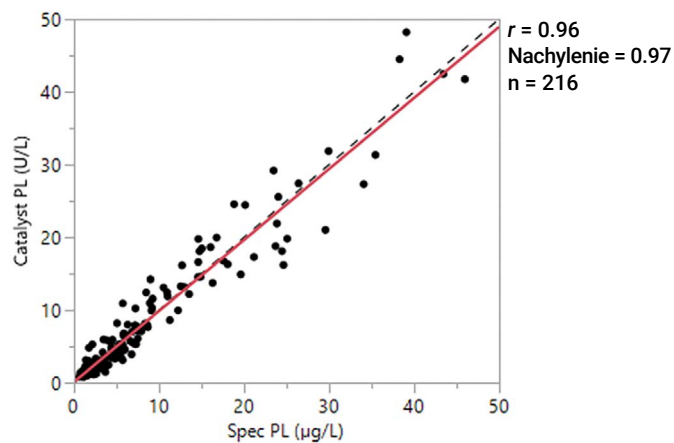
Wyniki

Porównanie metod

Badania porównawcze metod dla psów i kotów wykazują doskonałą korelację między testem Catalyst Pancreatic Lipase a testami Spec cPL i Spec fPL®. Wyniki zostały podsumowane na rysunkach 1 i 2. W przypadku klasyfikacji wyników istniała silna zgodność między obiema metodami.



Rysunek 1: Wykres korelacji porównań parami stężeń katalizatora lipazy trzustkowej (PL) i Spec cPL w próbkach psów. Linia najlepszego dopasowania (regresja liniowa) dla danych jest pokazana na wykresie (linia ciągła) z nachyleniem i wartością r . $x = y$ jest pokazane na wykresie jako linia przerywana.



Rysunek 2: Wykres korelacji porównań parami stężeń katalizatora lipazy trzustkowej (PL) i Spec fPL w próbkach kotów. Linia najlepszego dopasowania (regresja liniowa) dla danych jest pokazana na wykresie (linia ciągła) z nachyleniem i wartością r . Zależność $x = y$ jest pokazana na wykresie jako linia przerywana.

		Spec cPL		
		≤ 200 µg/l	201–399 µg/l	≥ 400 µg/l
Catalyst PL	≤ 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%

Tabela 1: Tabela kontyngencji dla psów. $n = 193$; ogólna zgodność = 84,8%.

		Spec fPL		
		≤ 4.4 µg/l	4.5–8.7 µg/l	≥ 8.8 µg/l
Catalyst PL	≤ 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%

Tabela 2: Tabela kontyngencji kotów. n = 216; ogólna zgodność = 87,5%.

Precyzja

Wyniki analizy precyzji przedstawiono w tabelach 3 i 4. Całkowity współczynnik zmienności (CV) testu Catalyst® Pancreatic Lipase wynosił < 10% dla wszystkich stężeń u obu gatunków, co wskazuje na doskonałą precyzję testu.

Gatunek	Urządzenie	Średnie stężenie Catalyst PL (U/l)	Odchylenie standardowe (U/l)	% CV	Obserwacje
Pies	Catalyst Dx® analizator biochemiczny	249	11	4.4	160
		580	24	4.2	160
		1339	118	8.8	160
	Catalyst One® analizator biochemiczny	239	9	3.9	160
		561	19	3.4	160
		1338	38	2.8	160

Tabela 3: Podsumowanie wyników badania precyzji u psów.

Gatunek	Urządzenie	Średnie stężenie Catalyst PL (U/l)	Odchylenie standardowe (U/l)	% CV	Obserwacje
Kot	Catalyst Dx® Chemistry Analyser	3.9	0.3	6.6	160
		5.3	0.4	8.5	159
		14.0	0.9	6.5	160
	Catalyst One® Chemistry Analyser	3.7	0.2	5.9	160
		5.1	0.3	6.0	160
		13.9	0.7	5.0	160

Tabela 4: Podsumowanie wyników badania precyzji u kotów.

Substancje zakłócające

Nie zaobserwowano interferencji z próbkami lipemicznymi lub żółtaczkowymi. Zakłócenia prowadzące do zmniejszenia stężenia Catalyst PL można zaobserwować w próbkach z umiarkowaną lub znaczną hemolizą (≥ 250 mg/dl).

Wyniki badania substancji zakłócających przedstawiono w tabelach 5 i 6.

Interferencje u psów					
Hemoliza		Lipemia		Żółtaczka	
Stężenie hemoglobiny (mg/dl)	Średnie stężenie Catalyst PL (U/l)	Stężenie Intralipid® (mg/dl)	Średnie stężenie Catalyst PL (U/l)	Stężenie ditaurobilirubiny (mg/dl)	Średnie stężenie Catalyst PL (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

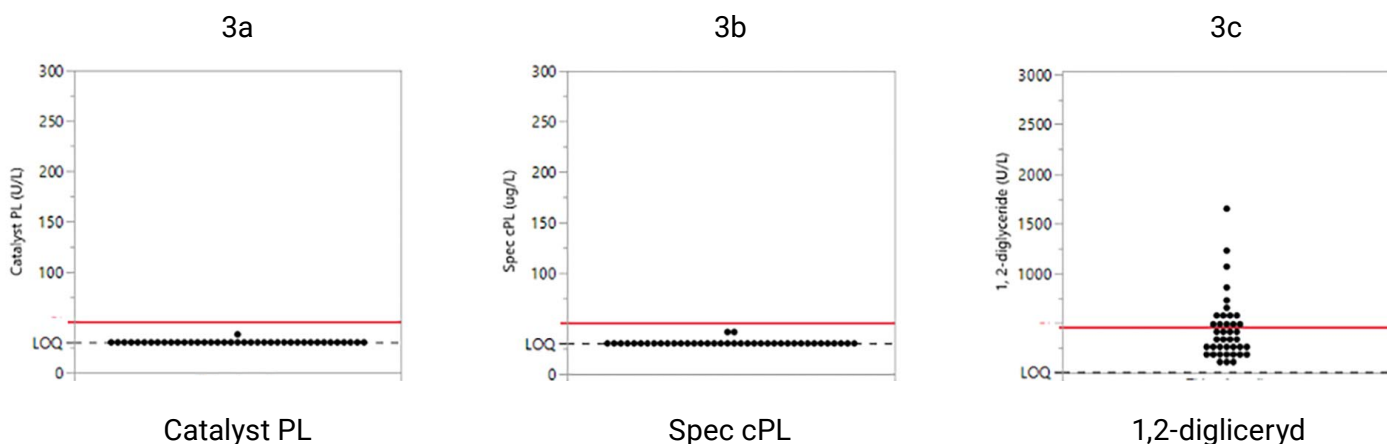
Tabela 5: Podsumowanie wyników badania substancji zakłócających u psów.

Interferencje u kotów					
Hemoliza		Lipemia		Żółtaczka	
Stężenie hemoglobiny (mg/dl)	Średnie stężenie Catalyst PL (U/l)	Stężenie Intralipid® (mg/dl)	Średnie stężenie Catalyst PL (U/l)	Stężenie ditaurobilirubiny (mg/dl)	Średnie stężenie Catalyst PL (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

Tabela 6: Podsumowanie wyników badania substancji zakłócających u kotów.

Ocena swoistości w populacji psów z EPI

Wyniki testów Catalyst® Pancreatic Lipase i Spec cPL® Test u psów GSD z EPI były niskie, a większość próbek znajdowała się na dolnej granicy oznaczalności lub poniżej niej (Catalyst PL < 30 U/l; Spec cPL < 30 µg/l). Aktywność lipazy mierzona metodą 1,2-diglicerydów miała wartości przekraczające przedział referencyjny, prawdopodobnie z powodu pomiaru aktywności lipazy ze źródeł innych niż trzustka.



Rysunek 3a: Wyniki testu lipazy trzustkowej Catalyst dla próbek od GSD z EPI. 100% próbek znajdowało się w dolnych 25% przedziału referencyjnego. Czerwona linia wskazuje 25% przedziału referencyjnego ($RI \leq 200$ U/l).

Rysunek 3b: Wyniki testu Spec cPL próbek z GSD z EPI. 100% próbek znajdowało się w dolnych 25% przedziału referencyjnego. Czerwona linia wskazuje 25% przedziału referencyjnego ($RI \leq 200$ μ g/l).

Rysunek 3c: Wyniki lipazy dla metody 1,2-diglicerydowej próbek z GSD z EPI. 62,5% próbek znajdowało się w dolnych 25% przedziału referencyjnego. Czerwona linia wskazuje 25% przedziału referencyjnego (RI 200-2800 U/l).#

Wnioski

Catalyst® Pancreatic Lipase zapewnia lekarzom weterynarii dostępny na miejscu ilościowy pomiar lipazy trzustkowej, który jest precyzyjny i dobrze koreluje z testami Spec cPL® i Spec fPL®. Podczas monitorowania lipazy trzustkowej w czasie zaleca się stosowanie tej samej metodologii w celu uzyskania najdokładniejszej oceny. Badania laboratoryjne próbek z wywołaną hemolizą wskazują, że na wyniki testu Catalyst Pancreatic Lipase mogą mieć wpływ próbki o umiarkowanym lub znacznym poziomie hemolizy. W oparciu o ocenę wyników lipazy w 3 różnych metodach, test Catalyst® Pancreatic Lipase wydaje się być tak samo specyficzny jak test Spec cPL w populacji GSD z EPI.

*Test na lipazę trzustkową Catalyst wykorzystuje jako substrat ester kwasu 1,2-dilaurylo-rac-glicero-3-glutarowego (6'-metylozeorufina) (DGGR).

†Lizat z czerwonych krwinek psów przemyto solą fizjologiczną i poddano lizie w wodzie bez środka powierzchniowo czynnego.

‡Intralipid® (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA), olej sojowy stabilizowany fosfolipidami.

§Koniugat bilirubiny (Scripps Laboratories, San Diego, Kalifornia, USA; numer katalogowy: B0114), syntetyzowana ditaurobilirubina.

*Vitros® Chemistry Lipase numer referencyjny slajdu 166 8409, wykonany na systemie chemicznym Vitros® 350, QuidelOrtho Corporation, San Diego, Kalifornia, USA.

#Przedział referencyjny

*1,2 lipazy diglicerydowej ustalony dla testu Catalyst Pancreatic Lipase Test.

Odnwołania

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.