

Test Catalyst® pankreatická lipáza: kvantitativní test pankreatické lipázy pro psy a kočky prováděný v ordinaci.

Úvod

Diagnostika pankreatitidy u psů a koček může být náročná vzhledem k nespecifickým a někdy nenápadným klinickým příznakům spojeným s tímto onemocněním. Veterinární lékaři musí spoléhat na kombinace anamnézy, klinických příznaků, laboratorních nálezů a diagnostických zobrazovacích metod.^{1,2} Jako biomarkery pankreatitidy jsou používány trávicí enzymy amyláza a celková lipáza, ale jejich diagnostický přínos je omezen kvůli nepankreatickým zdrojům těchto enzymů (např. žaludečních, jaterních). Testy Spec cPL® a Spec fPL® (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine) jsou imunologické testy, které specificky měří lipázu pankreatického původu a byly validovány literárními recenzemi.^{3,4}

Test Catalyst® pankreatická lipáza, je test aktivity* speciálně navržený tak, aby byl v souladu s testy Spec cPL a Spec fPL a poskytoval kvantitativní ambulantní výsledky vyšetření pankreatické lipázy psů a koček. Test Catalyst pankreatická lipáza má široký dynamický rozsah (pes 30–2000 U/l; kočka 0,5–50 U/l) a poskytuje výsledky do 10 minut ve vzorcích séra nebo lithium heparin plazmy (nebo plné krve s použitím separátoru plné krve s lithium heparinem).

Cílem této studie bylo porovnat test Catalyst pankreatická lipáza s testy Spec cPL a Spec fPL, posoudit přesnost testu, zhodnotit vliv běžných interferujících látek a vyhodnotit specifčnost testu Catalyst pankreatická lipáza, aby se zjistila hodnota pankreatické lipázy u populace německých ovčáků (NO) s exokrinní pankreatickou insuficiencí (EPI).

Materiály a metody

Porovnání metod

V souladu se správnými laboratorními podmínkami bylo získáno 193 vzorků psiho a 216 vzorků kočičího séra, které byly z klinických důvodů odeslány k vyšetření do referenčních laboratoří IDEXX. Vzorky byly analyzovány jednou pomocí testu Catalyst pankreatická lipáza na chemickém analyzátoru Catalyst One®. U testů Spec cPL (psi vzorky) a Spec fPL (kočičí vzorky) bylo rovněž provedeno šest repetice (opakování) každého vzorku. Výsledek každého testu Catalyst pankreatická lipáza byl spárován s průměrem z opakování testů Spec cPL a Spec fPL u příslušného vzorku. Byly vytvořeny korelační grafy s výpočtem *r*-hodnoty a sklonu. Výsledky každé metody byly

zařazeny do jedné ze tří kategorií na základě mezních hodnot použitých pro medicínskou interpretaci testů (jak je uvedeno v tabulkách 1 a 2). Klasifikace byly poté porovnávány pro každý druh v kontingenční tabulce.

Přesnost

Přesnost byla hodnocena opakovanou analýzou kontrolních tekutin v koncentracích představujících vysoké, střední a nízké hodnoty pro každý druh. Každá tekutina byla analyzována osmkrát denně po dobu 10 dnů na každém ze dvou biochemických analyzátorů Catalyst One® a dvou analyzátorů Catalyst Dx®. Výsledky jednoho kočičího vzorku byly vyřazeny kvůli supresi výsledku v důsledku chyby přístroje. Celkové procento koeficientu variace (CV) bylo vypočítáno jako poměr směrodatné odchylky a průměrné koncentrace.

Interferující látky

Interference způsobené hemoglobinem, lipidy nebo bilirubinem byly hodnoceny podle pokynů metody CLSI EP07-A2.⁵ Vzorky psiho a kočičího séra, které byly viditelně prosté interferujících látek, byly odebrány, sloučeny a obohaceny o různé koncentrace rekombinantní psí nebo kočičí pankreatické lipázy. K vyšetření potenciálního vlivu způsobeného hemolýzou, lipémií a ikterem byl použit hemolýzát červenýchrvinek psů[†], Intralipid®[‡] a ditaurobilirubin[§] (v tomto pořadí). Ze směsného vzorku byly připraveny alikvoty a byly obohaceny různými koncentracemi interferujících látek (jak je uvedeno v tabulkách 3 a 4). Šestnáct až šestatřicet opakování každého alikvotu bylo poté analyzováno na analyzátoru Catalyst One.

Hodnocení specifčnosti v populaci psů s EPI

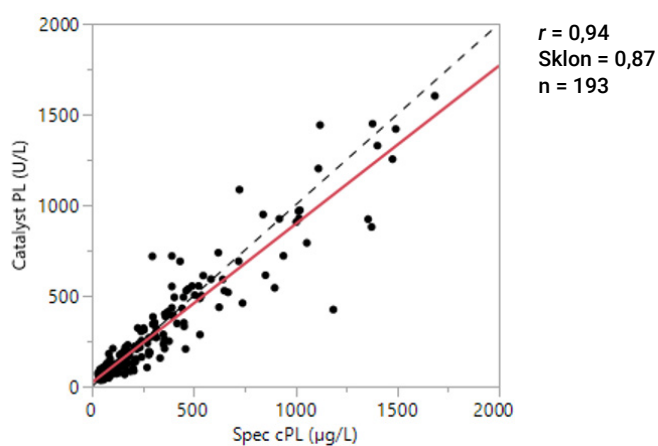
Jednou z metod hodnocení specifčnosti testu na lipázu je měření lipázy v populaci zvířat, u nichž se předpokládá extrémně nízká koncentrace pankreatické lipázy, jako jsou němečtí ovčáci (NO) s exokrinní pankreatickou insuficiencí (EPI). EPI způsobuje sníženou produkci a sekreci trávicích enzymů exokrinním pankreatem. Někteří NO mají dědičný znak, pankreatickou atrofii acinárních buněk, která vede k EPI.⁶ Měření významného množství lipázy v této populaci znamená měření lipázy nepankreatického původu.

Bylo získáno 40 vzorků séra od NO s výsledkem testu trypsinu podobné imunoreaktivity (TLI) nižším než 1 µg/l, které byly z klinických příčin vyšetřovány v referenčních laboratořích IDEXX. Vzorky byly analyzovány pomocí testu Catalyst pankreatická lipáza® (4 opakování), Spec cPL® (6 opakování) a testu na 1,2-diglyceridy z lipázy (2 opakování).^{*} Při analýze byl použit průměr opakování pro každý vzorek.

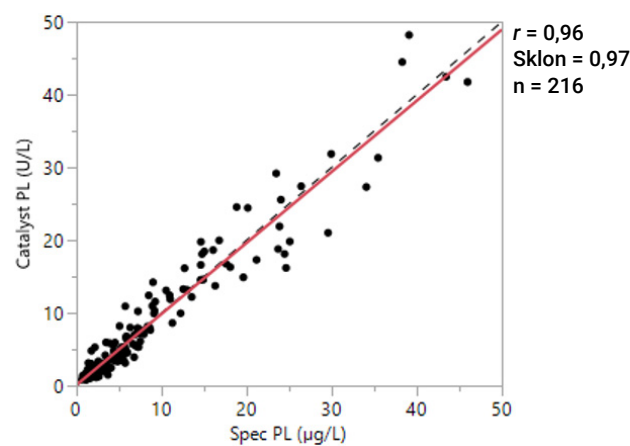
Výsledky

Porovnání metod

Studie porovnání metod u psů a koček vykazují vynikající korelaci mezi testem Catalyst pankreatická lipáza a testy Spec cPL a Spec fPL®. Zjištění jsou shrnuta na obrázcích 1 a 2. Z hlediska klasifikace výsledků byla zjištěna silná shoda obou metod.



Obrázek 1: Korelační graf párových porovnání koncentrací Catalyst pankreatická lipáza (PL) a Spec cPL v psích vzorcích. Plnou čarou je na grafu znázorněna regresní přímka dat (lineární regrese), která je doplněna o hodnotu sklonu a hodnotur. Stav $x = y$ je v grafu zobrazen přerušovanou čarou.



Obrázek 2: Korelační graf párových porovnání koncentrací Catalyst pankreatická lipáza (PL) a Spec fPL v kočičích vzorcích. Plnou čarou je na grafu znázorněna regresní přímka dat (lineární regrese), která je doplněna o hodnotu sklonu a hodnotur. Stav $x = y$ je v grafu zobrazen přerušovanou čarou.

		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 %

Tabulka 1: Kontingenční tabulka pro psy. $n = 193$; celková shoda = 84,8 %.

		Spec fPL		
Catalyst PL		≤ 4,4 µg/l	4,5–8,7 µg/l	≥ 8,8 µg/l
	≤ 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 %

Tabulka 2: Kontingenční tabulka pro kočky. n = 216; celková shoda = 87,5 %.

Přesnost

Výsledky analýzy přesnosti jsou uvedeny v tabulkách 3 a 4. Test Catalyst® pankreatická lipáza měl celkový variační koeficient (CV) < 10 % u všech koncentrací u obou druhů, což svědčí pro vynikající přesnost testu.

Druh	Přístroj	Průměrná koncentrace Catalyst PL (U/l)	Standardní odchylka (U/l)	% CV	Pozorování
Psi	Catalyst Dx® Chemický analyzátor	249	11	4,4	160
		580	24	4,2	160
		1339	118	8,8	160
	Catalyst One® Chemický analyzátor	239	9	3,9	160
		561	19	3,4	160
		1338	38	2,8	160

Tabulka 3: Souhrn výsledků ze studie přesnosti u psů.

Druh	Přístroj	Průměrná koncentrace Catalyst PL (U/l)	Standardní odchylka (U/l)	% CV	Pozorování
Kočky	Catalyst Dx® Chemický analyzátor	3,9	0,3	6,6	160
		5,3	0,4	8,5	159
		14,0	0,9	6,5	160
	Catalyst One® Chemický analyzátor	3,7	0,2	5,9	160
		5,1	0,3	6,0	160
		13,9	0,7	5,0	160

Tabulka 4: Souhrn výsledků ze studie přesnosti u koček.

Interferující látky

U lipemických nebo ikterických vzorků nebyla pozorována žádná interference. U vzorků se střední až výraznou hemolýzou (≥ 250 mg/dl) lze pozorovat interference vedoucí ke snížení koncentrace Catalyst PL.

Výsledky studie interferujících látek jsou uvedeny v tabulkách 5 a 6.

Interference u psů					
Hemolýza		Lipémie		Ikterus	
Koncentrace hemoglobinu (mg/dl)	Průměrná koncentrace Catalyst PL (U/l)	Koncentrace Intralipidu® (mg/dl)	Průměrná koncentrace Catalyst PL (U/l)	Koncentrace ditaurobilirubinu (mg/dl)	Průměrná koncentrace 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

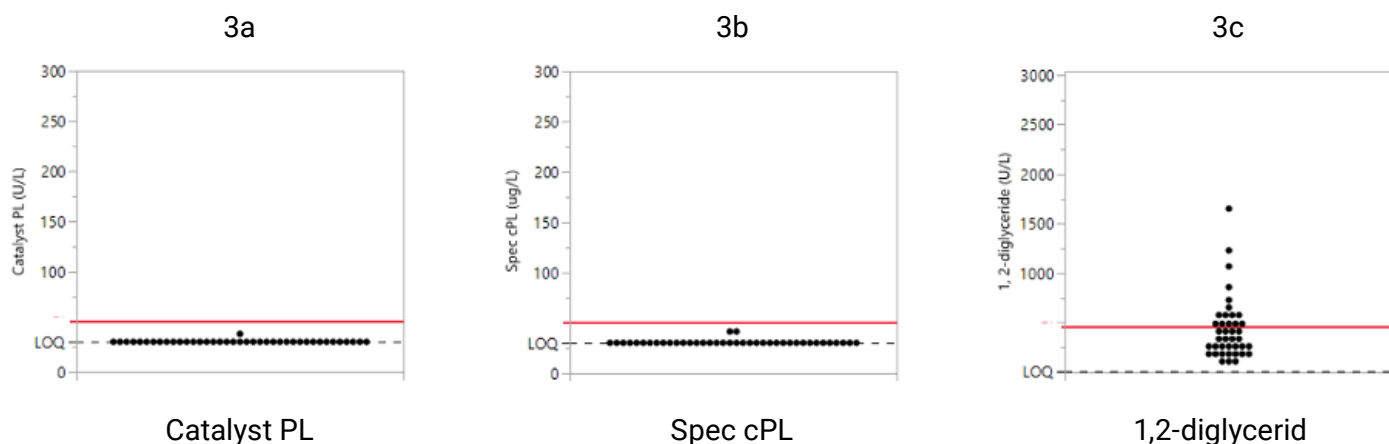
Tabulka 5: Shrnutí výsledků studie interferujících látek u psů.

Interference u koček					
Hemolýza		Lipémie		Ikterus	
Koncentrace hemoglobinu (mg/dl)	Průměrná koncentrace Catalyst PL (U/l)	Koncentrace Intralipidu® (mg/dl)	Průměrná koncentrace Catalyst PL (U/l)	Koncentrace ditaurobilirubinu (mg/dl)	Průměrná koncentrace 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

Tabulka 6: Shrnutí výsledků studie interferujících látek u koček.

Hodnocení specifičnosti v populaci psů s EPI

Výsledky testu Catalyst pankreatická lipáza® a Spec cPL® u NO s EPI byly nízké a většina vzorků byla na dolní hranici kvantifikace testů nebo pod ní (Catalyst PL < 30 U/l; Spec cPL < 30 µg/l). Aktivita lipázy měřená metodou 1,2-diglyceridů vykazovala hodnoty přesahující referenční interval, což bylo pravděpodobně způsobeno měřením aktivity lipázy z jiných než pankreatických zdrojů.



Obrázek 3a: Výsledky testu Catalyst pankreatická lipáza u vzorků odebraných od NO s EPI. 100 % vzorků se nacházelo v dolních 25 % referenčního intervalu. Červená čára označuje 25 % referenčního intervalu (RI $\leq$ 200 U/l).

Obrázek 3b: Výsledky testu Spec cPL vzorků odebraných u NO s EPI. 100 % vzorků se nacházelo v dolních 25 % referenčního intervalu. Červená čára označuje 25 % referenčního intervalu (RI $\leq$ 200 ug/l).

Obrázek 3c: Výsledky metody 1,2-diglyceridů z lipázy u vzorků odebraných u NO s EPI. 62,5 % vzorků se nacházelo v dolních 25 % referenčního intervalu. Červená čára označuje 25 % referenčního intervalu (RI 200–2800 U/l).[#]

Závěr

Test Catalyst® pankreatická lipáza poskytuje veterinárním lékařům kvantitativní „in-house“ test stanovující pankreatickou lipázu, který je přesný a dobře koreluje s testy Spec cPL® a Spec fPL®. Při sledování pankreatické lipázy v průběhu času se pro co nejpřesnější hodnocení doporučuje používat vždy stejnou metodiku. Na základě laboratorního testování vzorků se záměrnou hemolýzou mohou být výsledky testu Catalyst pankreatická lipáza ovlivněny střední až výraznou mírou hemolýzy. Na základě vyhodnocení výsledků lipázy u 3 různých metod se zdá, že test Catalyst pankreatická lipáza je u populace NO s EPI stejně specifický jako test Spec cPL.

*Test Catalyst pankreatická lipáza používá jako substrát ester kyseliny 1,2-o-dilauryl-rac-glycero-3-glutarové (6'-methylresorufin) (DGGR).

[†] Lyzát z psích červených krvinek promytý ve fyziologickém roztoku a lyzovaný ve vodě bez přidavku povrchově aktivní látky.

[‡] Intralipid® (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA), sójový olej stabilizovaný fosfolipidy.

[§] Konjugovaný bilirubin (Scripps Laboratories, San Diego, USA; katalog. č.: B0114), syntetický dítairobilirubin.

[¶] Vitros® Referenční číslo chemického preparátu lipázy 166 8409, provedeno na chemickém systému Vitros® 350, QuidelOrtho Corporation, San Diego, Kalifornie, USA.

[#] referenční interval 1,2-diglyceridů lipázy stanovený pro test Catalyst pankreatická lipáza.

Literatura

- 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
- 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
- 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
- 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
- CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition.* Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. CLSI document EP07-A2.
- Steiner J. Exocrine Pancreatic Insufficiency and Rare Conditions of the Exocrine Pancreas. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 9th ed. Elsevier; 2024:1875–1879.