

Prueba Catalyst® Lipasa Pancreática: un test en clínica cuantitativo de lipasa pancreática para perros y gatos.

Introducción

El diagnóstico de la pancreatitis en perros y gatos puede ser todo un reto debido a los signos clínicos no específicos y, a veces, sutiles, que se asocian con esta enfermedad. Los veterinarios deben confiar en una combinación del historial del paciente, signos clínicos, hallazgos de laboratorio y técnicas de diagnóstico por imagen.^{1,2} Las enzimas digestivas amilasa y lipasa general se han usado como biomarcadores para la pancreatitis, pero la utilidad diagnóstica está limitada por la influencia de la procedencia no pancreática de las enzimas (p. ej., gástricas, hepáticas) en los ensayos. Las pruebas Spec cPL® y Spec fPL® (IDEXX Laboratories, Westbrook, Maine) son ensayos inmunológicos que miden, específicamente, la lipasa de origen pancreático; además, se han validado en estudios revisados por pares externos.^{3,4}

La prueba Catalyst® Lipasa Pancreática es un ensayo de actividad* diseñado específicamente para alinearse con las pruebas Spec cPL y Spec fPL, con el fin de proporcionar unos resultados cuantitativos de la lipasa pancreática en clínica para perros y gatos. La prueba Catalyst Lipasa Pancreática tiene un amplio rango dinámico (canino 30-2000 u/l; felino 0,5-50 u/l) y proporciona resultados en diez minutos con muestras de suero o plasma con heparina de litio (o utilizando el separador de sangre entera con heparina de litio).

El objetivo de este estudio es comparar el rendimiento de la prueba Catalyst Lipasa Pancreática con las pruebas Spec cPL y Spec fPL, calcular la precisión de la prueba, evaluar la influencia de sustancias interferentes comunes, así como valorar la especificidad de la prueba Catalyst Lipasa Pancreática para la lipasa pancreática en una población de perros de la raza pastor alemán con insuficiencia pancreática exocrina (IPE).

Materiales y métodos

Comparación de métodos

193 muestras de suero canino y 216 muestras de suero felino, enviadas inicialmente a los laboratorios IDEXX con fines clínicos, se obtuvieron conforme a las condiciones de laboratorio. Las muestras se analizaron una vez con la prueba Catalyst Lipasa Pancreática en un analizador de bioquímica Catalyst One®. Seis réplicas de cada muestra también se analizaron con las pruebas Spec cPL (muestras caninas) y Spec fPL (muestras felinas). El resultado de cada prueba Catalyst Lipasa Pancreática se emparejó con la media de las réplicas Spec cPL y Spec fPL en la muestra correspondiente. Se crearon diagramas de correlación con el cálculo del valor de r y la pendiente. Los resultados

de cada método se asignaron a una de las tres categorías según los puntos de corte empleados para la interpretación médica de los ensayos (como se muestra en las tablas 1 a 2). Seguidamente, las clasificaciones se compararon en una tabla de contingencias para cada especie.

Precisión

La precisión se evaluó mediante el análisis repetido de los líquidos de control con concentraciones representativas de resultados altos, medios y bajos para cada especie. Cada líquido se analizó ocho veces por día durante diez días en cada uno de los dos analizadores de bioquímica Catalyst One® y los dos Catalyst Dx®. Los resultados de una muestra felina se excluyeron, debido a la supresión del resultado por un error del instrumento. El coeficiente de variación (CV) porcentual total se calculó como la relación entre la desviación estándar y la media de la concentración.

Sustancias interferentes

La interferencia causada por hemoglobina, lípidos o bilirrubina se evaluó mediante las directrices del método CLSI EP07-A2.⁵ Las muestras de suero canino y felino, que claramente estaban limpias de sustancias interferentes, se recogieron, mezclaron y enriquecieron con distintas concentraciones de lipasa pancreática canina o felina recombinante. Se emplearon el hemolizado de glóbulos rojos caninos[†], emulsión Intralipid®[‡] y ditaurobilirrubina[§] para investigar el posible impacto por hemólisis, lipemia e ictericia, respectivamente. A continuación se prepararon alícuotas de las muestras mezcladas y se enriquecieron con distintas concentraciones de las sustancias interferentes (tal y como se muestra en las tablas 3 y 4). A continuación, entre 16 y 36 réplicas de cada alícuota se analizaron en un analizador Catalyst One.

Evaluación de la especificidad en una población de perros con IPE

Un método para evaluar la especificidad de un ensayo de lipasa es medir la lipasa en una población de animales de los que se espera que tengan unas concentraciones de lipasa extremadamente bajas, como los pastores alemanes con insuficiencia pancreática exocrina (IPE). La IPE causa una reducción en la producción y secreción de las enzimas digestivas por el páncreas exocrino. Algunos pastores alemanes tienen un rasgo heredado —atrofia de las células acinares pancreáticas— que produce IPE.⁶ La medición de unas cantidades significativas de lipasa en esta población sugiere la medición de lipasa de origen no pancreático.

Se obtuvieron 40 muestras de suero de pastores alemanes con un resultado de ensayo de inmunorreactividad similar a la tripsina (TLI) inferior a 1 µg/l, inicialmente enviadas a los laboratorios IDEXX con fines clínicos. Las muestras se analizaron con la prueba Catalyst® Lipasa Pancreática (cuatro réplicas), prueba Spec cPL® (seis réplicas) y un ensayo de lipasa 1,2-diglicéridos (dos réplicas).¹ En el análisis se utilizó la media de las réplicas para cada muestra.

Resultados

Comparación de métodos

Los estudios de comparación de los métodos canino y felino muestran una correlación excelente entre la prueba Catalyst Lipasa Pancreática y las pruebas Spec cPL y Spec fPL®. Los hallazgos se resumen en las figuras 1 y 2. En lo que respecta a la clasificación de los resultados, se observó una fuerte concordancia entre los dos métodos.

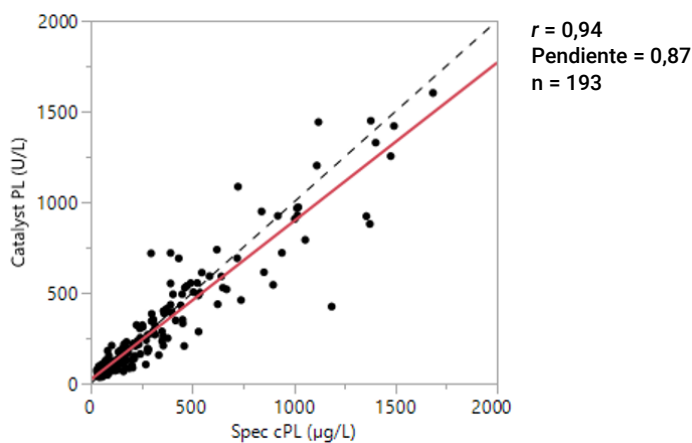


Figura 1: Gráfico de correlación de comparaciones pareadas de Catalyst Lipasa Pancreática (LP) y las concentraciones Spec cPL en muestras caninas. La línea de ajuste óptimo (regresión lineal) de los datos se muestra en el gráfico (línea sólida) con la pendiente y el valor de *r*. La *x = y* se muestra en la línea discontinua del gráfico.

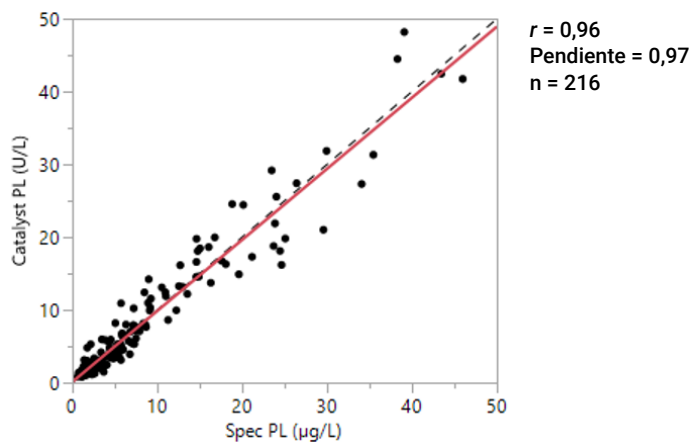


Figura 2: Gráfico de correlación de comparaciones pareadas de Catalyst Lipasa Pancreática (LP) y las concentraciones Spec fPL en muestras felinas. La línea de ajuste óptimo (regresión lineal) de los datos se muestra en el gráfico (línea sólida) con la pendiente y el valor de *r*. La *x = y* se muestra en la línea discontinua del gráfico.

		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%

Tabla 1: Tabla de contingencia canina. n = 193; concordancia general = 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%

Tabla 2: Tabla de contingencia felina. n = 216; concordancia general = 87,5 %.

Precisión

Los resultados del análisis de la precisión se muestran en las tablas 3 y 4. La prueba Catalyst® Lipasa Pancreática tuvo un coeficiente de variación (CV) total de < 10 % en todas las concentraciones de ambas especies, lo que indica una precisión excelente de ensayo.

Especies	Instrumento	Concentración media Catalyst LP (u/l)	Desviación estándar (u/l)	% CV	Observaciones
Caninos	Catalyst Dx® Analizador de bioquímica	249	11	4.4	160
		580	24	4.2	160
		1339	118	8.8	160
	Catalyst One® Analizador de bioquímica	239	9	3.9	160
		561	19	3.4	160
		1338	38	2.8	160

Tabla 3: Resumen de los resultados del estudio de precisión canina.

Especies	Instrumento	Concentración media Catalyst LP (u/l)	Desviación estándar (u/l)	% CV	Observaciones
Felinos	Catalyst Dx® Analizador de bioquímica	3.9	0.3	6.6	160
		5.3	0.4	8.5	159
		14.0	0.9	6.5	160
	Catalyst One® Analizador de bioquímica	3.7	0.2	5.9	160
		5.1	0.3	6.0	160
		13.9	0.7	5.0	160

Tabla 4: Resumen de los resultados del estudio de precisión felina.

Sustancias interferentes

No se observó ninguna interferencia con las muestras lipémicas o ictericas. Puede observarse una interferencia causante de una reducción de la concentración de Catalyst LP en muestras con una hemólisis de intermedia a marcada (≥ 250 mg/dl). Los resultados del estudio con las sustancias interferentes se describen en las tablas 5 y 6.

Interferencias caninas					
Hemólisis		Lipemia		Ictericia	
Concentración de hemoglobina (mg/dl)	Concentración media Catalyst LP (u/l)	Concentración de emulsión Intralipid® (mg/dl)	Concentración media Catalyst LP (u/l)	Concentración de ditaurobilirrubina (mg/dl)	Concentración media 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

Tabla 5: Resumen de los resultados del estudio de las sustancias interferentes caninas.

Interferencias felinas					
Hemólisis		Lipemia		Ictericia	
Concentración de hemoglobina (mg/dl)	Concentración media Catalyst LP (u/l)	Concentración de emulsión Intralipid® (mg/dl)	Concentración media Catalyst LP (u/l)	Concentración de ditaurobilirrubina (mg/dl)	Concentración media 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

Tabla 6: Resumen de los resultados del estudio de las sustancias interferentes felinas.

Evaluación de la especificidad en una población de perros con IPE

Los resultados de la prueba Catalyst® Lipasa Pancreática y la prueba Spec cPL® en pastores alemanes con IPE eran bajos, con la mayoría de las muestras en el límite inferior (o por debajo) de la cuantificación (Catalyst LP < 30 u/l; Spec cPL < 30 µg/l) de los ensayos. La actividad de la lipasa medida con el método de 1,2-diglicéridos presentó valores que se extendían a lo largo del intervalo de referencia, probablemente por la medición de la actividad de la lipasa de procedencia no pancreática.

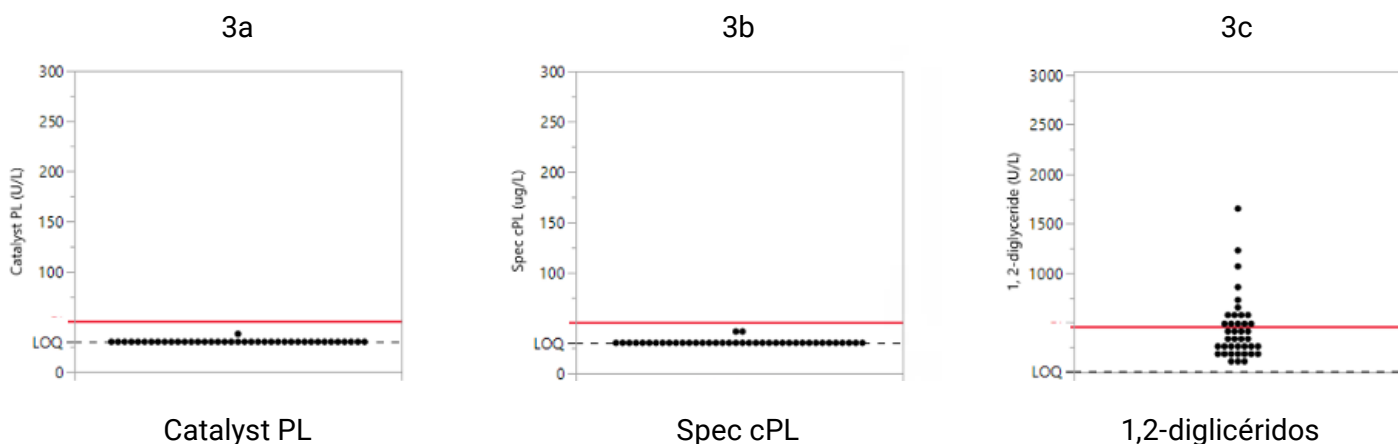


Figura 3a: Resultados de la prueba Catalyst Lipasa Pancreática de muestras de pastores alemanes con IPE. El 100 % de las muestras estaban por debajo del 25 % del intervalo de referencia. La línea roja indica el 25 % del intervalo de referencia (IR \leq 200 u/l).

Figura 3b: Resultados de la prueba Spec cPL de muestras de pastores alemanes con IPE. El 100 % de las muestras estaban por debajo del 25 % del intervalo de referencia. La línea roja indica el 25 % del intervalo de referencia (IR \leq 200 μ g/l).

Figura 3c: Resultados del método de lipasa 1,2-diglicéridos de muestras de pastores alemanes con IPE. El 62,5 % de las muestras estaban por debajo del 25 % del intervalo de referencia. La línea roja indica el 25 % del intervalo de referencia (IR 200-2800 u/l).[#]

Conclusión

La prueba Catalyst® Lipasa Pancreática proporciona a los veterinarios una prueba cuantitativa en la clínica de lipasa pancreática que es precisa y que se correlaciona bien con las pruebas Spec cPL® y Spec fPL®. Al controlar la lipasa pancreática a lo largo del tiempo, se recomienda emplear el mismo método para una evaluación lo más precisa posible. Sobre la base de las pruebas realizadas en laboratorios de muestras con hemólisis artificial, los resultados de la prueba Catalyst Lipasa Pancreática pueden verse afectadas por muestras con unos niveles moderados a marcados de hemólisis. Sobre la base de la evaluación de los resultados de lipasa en los tres métodos distintos, la prueba Catalyst Lipasa Pancreática parece ser tan específica como la prueba Spec cPL Test en una población de pastores alemanes con IPE.

*La prueba Catalyst Lipasa Pancreática utiliza lipasa de éster (DGGR) del ácido 1,2-o-dilauril-rac-glicero-3-glutárico (6'-metilresorufina) como sustrato.

[†]Lisado de glóbulos rojos caninos lavados en solución salina y lisados en agua sin tensioactivos.

[‡]Emulsión Intralipid® (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, EE. UU.), un aceite de soja fosfolipídico purificado.

[§]Bilirrubina conjugada (Scripps Laboratories, San Diego, California, EE. UU.; n.º catálogo: B0114), una ditaurobilirrubina sintetizada.

[¶]Portaobjetos para bioquímica de lipasa Vitros® con n.º de referencia 166 8409, analizado en sistema bioquímico Vitros® 350, QuidelOrtho Corporation, San Diego, California EE. UU.

[#]Intervalo de referencia de lipasa 1,2-diglicéridos establecido para la prueba Catalyst Lipasa Pancreática.

Referencias

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. En: *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 9.ª ed. Elsevier; 2024:1875–1879.