

Catalyst® Pancreatic Lipase Test: ein Test zur Bestimmung der Pankreaslipase bei Hunden und Katzen in der Praxis.

Einleitung

Die Diagnose einer Pankreatitis bei Hunden und Katzen kann aufgrund der unspezifischen und manchmal subtilen klinischen Symptome, die mit dieser Erkrankung einhergehen, recht schwierig sein. Tierärzte/innen müssen sich auf eine Kombination aus Anamnese, klinischen Symptomen, Laborbefunden und bildgebenden Verfahren bei der Diagnosefindung verlassen.^{1,2} Die Verdauungsenzyme Amylase und allgemeine Lipase wurden in der Vergangenheit als Biomarker für eine Pankreatitis verwendet, ihre diagnostische Aussagekraft wird jedoch durch den Einfluss nicht-pankreatischer Quellen dieser Enzyme (z. B. aus dem Magen oder der Leber) beeinträchtigt. Die Tests Spec cPL® und Spec fPL® (IDEXX Labore) sind immunologische Assays, die spezifisch die Lipase ausschließlich pankreatischen Ursprungs messen und in der Literatur validiert wurden.^{3,4}

Der Catalyst® Pancreatic Lipase Test ist ein Aktivitätsassay*, der speziell auf die Spec cPL- und Spec fPL-Assays abgestimmt ist und quantitative Ergebnisse für die Pankreaslipase für Hunde und Katzen liefert. Der Catalyst® Pancreatic Lipase Test hat einen weiten dynamischen Meßbereich (Hund 30-2000 U/L; Katze 0,5-50 U/L) und liefert Resultate innerhalb von 10 Minuten aus Serum- oder Lithiumplasmaproben (oder Vollblut unter Verwendung des Vollblut mit dem Lithium-Heparin-Vollblutseparator).

Ziel dieser Studie war es, die Performance des Catalyst® Pancreatic Lipase Tests zu evaluieren und mit den Spec cPL- und Spec fPL-Testresultaten zu vergleichen. Hierzu wurde die Präzision des Tests, der Einflusses üblicher Störsubstanzen und die Spezifität des Catalyst® Pancreatic Lipase Assays anhand der Bestimmung der Catalyst® Pancreatic Lipase in einer Population Deutscher Schäferhunde mit exokriner Pankreasinsuffizienz (EPI) bestimmt.

Materialien und Methoden

Methodenvergleich

Serumproben von 193 Hunden und 216 Katzen, die ursprünglich zu klinischen Zwecken bei IDEXX Laboren eingereicht wurden, wurden gemäß den Nutzungsbedingungen des Labors für die Untersuchung verwendet. Die Proben wurden einmal mit dem Catalyst® Pancreatic Lipase Test mit Hilfe eines Catalyst One® Analysegeräts analysiert. Zudem wurden sechs Replikate jeder Probe mit dem Spec cPL- (Hundeproben) und dem Spec fPL-Test (Katzenproben) untersucht. Die Ergebnisse aller Catalyst® Pancreatic Lipase Tests wurden mit dem Mittelwert der Spec cPL- und Spec fPL-Replikate der jeweiligen Proben kombiniert. Es wurden Korrelationsdiagramme erstellt mit Berechnung des r-Wertes und der Steigung. Die Ergebnisse jeder Methode wurden auf der Grundlage der für die medizinische Interpretation verwendeten Grenzwerte in eine von drei Gruppen eingeteilt (siehe Tabellen 1 und 2). Anschließend wurden die Klassifikationen in einer Kontingenztafel für die jeweilige Tierart verglichen.

Präzision

Die Präzision wurde durch wiederholte Analyse von Kontrollflüssigkeiten, die jeweils eine hohe, mittlere und niedrige Konzentration pankreatischer Lipase für beide Spezies repräsentieren, ermittelt. Alle Konzentrationen wurden 10 Tage lang achtmal pro Tag mit jedem der beiden Catalyst One® und der beiden Catalyst Dx® Blutchemie-Analysegeräte analysiert. Die Ergebnisse einer Katzenprobe wurde herausgenommen, da das Ergebnis aufgrund eines Gerätefehlers nicht gültig war. Der prozentuale Variationskoeffizient (CV) wurde aus dem Verhältnis der Standardabweichung zum Mittelwert der Konzentration berechnet.

Interferierende Substanzen

Die Interferenz durch Hämoglobin, Lipid oder Bilirubin wurde entsprechend der Leitlinien der CLSI EP07-A2-Methode ermittelt.⁵ Serumproben von Hunden und Katzen, die offensichtlich frei von Törfaktoren waren, wurden gesammelt, gepoolt und mit unterschiedlichen Konzentrationen rekombinanter pankreasspezifischer Lipase von Hunden oder Katzen angereichert. Für die Untersuchung des potenziellen Einflusses durch Hämolyse, Lipämie und Ikterus wurden jeweils Hämolyse der roten Blutkörperchen †, Intralipid‡ und Ditaurobilirubin§ verwendet. Die Aliquote der gepoolten Proben wurden vorbereitet und mit verschiedenen Konzentrationen der Interferenzsubstanzen angereichert (siehe Tabellen 3 und 4). Sechzehn der sechsunddreißig Replikate jeder einzelnen Aliquote wurden anschließend auf einem Catalyst One® Analysegerät analysiert.

Evaluation der Spezifität mit Hilfe einer Population an EPI erkrankten Hunden

Ein Verfahren zur Beurteilung der Spezifität eines Assays zur Messung der pankreatischen Lipase ist die Messung von Lipase in einer Population von Tieren, die erwartungsgemäß extrem niedrige Konzentrationen von Pankreaslipase aufweisen, wie z. B. Deutsche Schäferhunde mit exokriner Pankreasinsuffizienz (EPI). Eine EPI verursacht eine verminderte Produktion und Sekretion von Verdauungsenzymen durch das exokrine Pankreas. Einige Deutsche Schäferhunde weisen eine vererbare Erkrankung auf, die Atrophie der Pankreas-Azinuszellen, die zu EPI führt.⁶ Der Nachweis signifikanter Mengen an Lipase in dieser Population deutet darauf hin, dass die gemessene Lipase aus einer nicht pankreatischen Quelle stammt.

Es wurden vierzig Proben von Deutschen Schäferhunden mit einem Testergebnis für trypsinähnliche Immunreaktivität (TLI) im Serum von weniger als 1 µg/l gesammelt, die ursprünglich für klinische Zwecke an IDEXX Labore gesendet wurden. Die Proben wurden mit dem Catalyst® Pancreatic Lipase Test (4 Replikate), dem Spec cPL® Test (6 Replikate) und einem 1,2-Diglyceride-Lipase-Assay (2 Replikate) analysiert.¹ Für die Analyse wurde der Mittelwert der Replikate der einzelnen Proben verwendet.

Ergebnisse

Methodenvergleich

Die Studie zum Methodenvergleich bei Hunden und Katzen wies eine hervorragende Korrelation zwischen dem Catalyst® Pancreatic Lipase Test und den Spec cPL®- und Spec fPL® Tests auf. Die Ergebnisse sind in Abbildung 1 und 2 zusammengefasst. Bei der Klassifizierung der Ergebnisse zeigte sich eine starke Übereinstimmung beider Methoden.

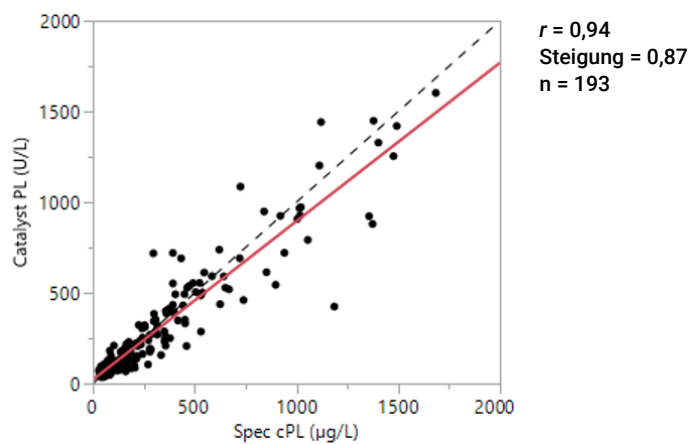


Abbildung 1: Korrelationsdiagramm des paarweisen Vergleichs der Catalyst Pancreatic Lipase (PL)- und Spec cPL-Konzentrationen in Hundeproben. Die Linie der besten Übereinstimmung (lineare Regression) für die Daten ist in der Grafik (durchgängige Linie) mit der Steigung und dem *r*-Wert angegeben. *x* = *y* ist als gestrichelte Linie in der Kurve ausgewiesen.

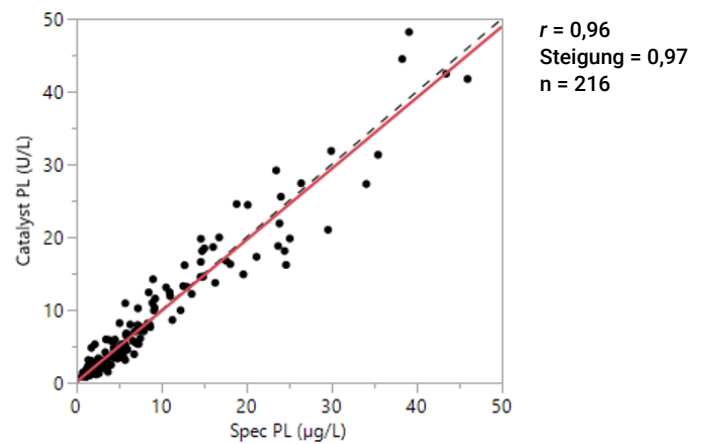


Abbildung 2: Korrelationsdiagramm des paarweisen Vergleichs der Catalyst Pancreatic Lipase (PL)- und Spec cPL-Konzentrationen in Katzenproben. Die Linie der besten Übereinstimmung (lineare Regression) für die Daten ist in der Grafik (durchgängige Linie) mit der Steigung und dem *r*-Wert angegeben. *x* = *y* ist als gestrichelte Linie in der Kurve ausgewiesen.

		Spec cPL		
		≤ 200 µg/l	201–399 µg/l	≥ 400 µg/l
Catalyst PL	≤ 200 µg/l	51.4%	6.2%	0.0%
	201–399 U/l	1.8%	13.0%	2.8%
	≥ 400 µg/l	0.0%	4.5%	20.4%

Tabelle 1: Kontingenztabelle bei Hunden. *n* = 193; Gesamtkonkordanz = 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%

Tabelle 2: Kontingenztabelle bei Katzen n = 216; Gesamtkonkordanz = 87,5 %.

Präzision

Die Ergebnisse der Präzisionsanalyse sind in den Tabellen 3 und 4 dargestellt. Der Catalyst® Pancreatic Lipase Test hatte bei allen Konzentrationen beider Tierarten einen Variationskoeffizienten (CV) von < 10 %, was auf eine hervorragende Präzision des Assays hinweist.

Tierarten	Gerät	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (U/l)	Standardabweichung (U/l)	% CV	Beobachtungen
Hunde	Catalyst Dx® Chemieanalysegerät	249	11	4.4	160
		580	24	4.2	160
		1339	118	8.8	160
	Catalyst One® Chemieanalysegerät	239	9	3.9	160
		561	19	3.4	160
		1338	38	2.8	160

Tabelle 3: Zusammenfassung der Ergebnisse der Präzisionsstudie bei Hunden.

Tierarten	Gerät	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (U/l)	Standardabweichung (U/l)	% CV	Beobachtungen
Katzen	Catalyst Dx® Chemieanalysegerät	3.9	0.3	6.6	160
		5.3	0.4	8.5	159
		14.0	0.9	6.5	160
	Catalyst One® Chemieanalysegerät	3.7	0.2	5.9	160
		5.1	0.3	6.0	160
		13.9	0.7	5.0	160

Tabelle 4: Zusammenfassung der Ergebnisse der Präzisionsstudie bei Katzen.

Interferierende Substanzen

Bei lipämischen oder ikterischen Proben konnten keine Interferenzen nachgewiesen werden. Interferierende Substanzen, die zu einer reduzierten Catalyst® PL-Konzentration führen, könnten in Proben mit mäßiger bis starker Hämolyse (≥ 250 mg/dl) beobachtet werden. Die Ergebnisse der Studie zu Interferenzsubstanzen sind in den Tabellen 5 und 6 dargestellt.

Interferenzen bei Hunden					
Hämolyse		Lipämie		Ikterus	
Hämoglobinkonzentration (mg/dl)	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (U/l)	Intralipid® Konzentration (mg/dl)	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (U/l)	Ditauobilirubin-Konzentration (mg/dl)	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (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

Tabelle 5: Zusammenfassung der Ergebnisse der Studie zu interferierenden Substanzen.

Interferenzen bei Katzen					
Hämolyse		Lipämie		Ikterus	
Hämoglobinkonzentration (mg/dl)	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (U/l)	Intralipid® Konzentration (mg/dl)	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (U/l)	Ditauobilirubin-Konzentration (mg/dl)	Mittlere Catalyst PL-Konzentration (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

Tabelle 6: Zusammenfassung der Ergebnisse der Studie zu interferierenden Substanzen.

Beurteilung der Spezifität einer Population von an EPI erkrankten Hunden

Die Messergebnisse der Probenanalysen von Deutschen Schäferhunden mit EPI mit dem Catalyst® Pancreatic LipaseTest und dem Spec cPL® Test waren niedrig; wobei die meisten Proben an oder unter der unteren Bestimmungsgrenze (Catalyst PL < 30 U/l; Spec cPL < 30 µg/l) der Assays lagen. Die anhand des 1,2-Diglyceride-Verfahrens gemessene Lipaseaktivität wies Werte auf, die zum Teil über dem Referenzintervall lagen, was wahrscheinlich auf die Messung der Lipaseaktivität aus nicht-pankreatischen Quellen zurückzuführen ist.

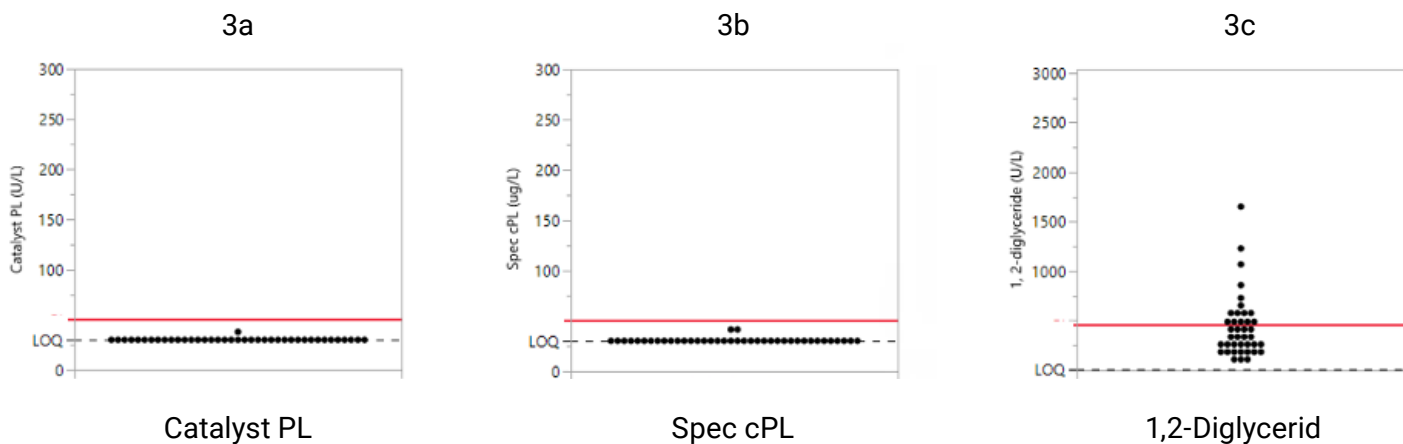


Abbildung 3a: Ergebnisse des Catalyst® Pancreatic Lipase Test mit Proben von Deutschen Schäferhunden mit EPI. 100 % der Proben lagen in den unteren 25 % des Referenzintervalls. Die rote Linie markiert 25 % des Referenzintervalls (RI ≤ 200 U/l).

Abbildung 3b: Ergebnisse des Spec cPL® Test mit Proben von Deutschen Schäferhunden mit EPI. 100 % der Proben lagen in den unteren 25 % des Referenzintervalls. Die rote Linie markiert 25 % des Referenzintervalls (RI ≤ 200 µg/l).

Abbildung 3c: Ergebnisse des 1,2-Diglyceride-Lipase-Verfahrens mit Proben von Deutschen Schäferhunden mit EPI. 62,5 % der Proben lagen in den unteren 25 % des Referenzintervalls. Die rote Linie markiert 25 % des Referenzintervalls (RI 200–2800 U/l).[#]

Schlussfolgerung

Der Catalyst® Pancreatic Lipase Test bietet Tierärzten/innen einen quantitativen Pankreaslipasetest für den Einsatz in der Praxis, der präzise ist und gut mit den Spec cPL®- und Spec fPL®-Tests korreliert. Bei der Überwachung der Pankreaslipase über einen längeren Zeitraum wird empfohlen, die selbe Methode zu verwenden, um eine möglichst genaue Bewertung zu erhalten. Basierend auf Labortests von Proben mit künstlicher Hämolyse können die Ergebnisse des Catalyst® Pancreatic Lipase Test durch Proben mit mäßiger bis starker Hämolyse beeinflusst werden. Basierend auf der Auswertung der Lipase-Ergebnisse mit 3 verschiedenen Messmethoden, scheint der Catalyst®-Test zur Bestimmung pankreasspezifischer Lipase in einer Population von Deutschen Schäferhunden mit EPI ebenso spezifisch zu sein wie der Spec cPL®-Test.

*Im Catalyst® Pancreatic Lipase Test wird 1,2-o-galauryl-rac-glycero-3-glutaric-acid-(6' -methylresorufin)-Ester (DGGR) als Substrat verwendet.

[†]Lysat von roten Blutkörperchen von Hunden, die in Kochsalzlösung gewaschen und in Wasser lysiert wurden.

[‡]Intralipid® (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA) ist ein Phospholipid-stabilisiertes Sojabohnenöl.

[§]Bilirubin-Konjugat (Scripps Laboratories, San Diego, Kalifornien, USA; Katalognummer: B0114) ist ein synthetisiertes Ditaurobilirubin.

^{*}Vitros® Blutchemie-Lipase-Testplättchen Referenznummer 166 8409, durchgeführt auf dem Vitros® 350 Blutchemiesystem, QuidelOrtho Corporation, San Diego, Kalifornien USA.

[#]1,2-Diglyceride-Lipase-Referenzintervall für den Catalyst® Pancreatic Lipase Test.

Literatur

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.