

Performance del test IDEXX Cancer Dx per il rilevamento di linfoma e del corrispondente immunofenotipo nei cani

Dana Connell, DVM, MPH, MS, DACVIM (oncology); Corie Drake, MSc, MBA; Helen Michael DVM, PhD, DACVP;
Amanda Nascimento, DVM, MSc, PhD, ABVT; Sarai H. Stuart, PhD; Helen Lyons, PhD

Introduzione

Il linfoma è uno dei tumori maligni più comuni nei cani, e costituisce il 24% di tutte le neoplasie maligne diagnosticate e l'83% dei tumori ematologici.¹ L'incidenza annuale stimata è di circa 160 casi ogni 100.000 cani di tutte le età.¹ È più frequente nei cani di mezza età rispetto a quelli anziani, con un'età media alla diagnosi di 8,8 anni.² Alcune razze, come bullmastiff, boxer e bovaro del Bernese, presentano una predisposizione a un rischio maggiore e a un'età di insorgenza più giovane.² La maggior parte dei linfomi canini si presenta in stadio avanzato, e meno del 5% dei cani raggiunge la guarigione completa.^{1,3} La chemioterapia rappresenta il trattamento di elezione e può essere somministrata secondo protocolli multi-farmaco o a singolo farmaco, inducendo remissione nell'80-90% dei casi.^{4,5} Senza trattamento, la sopravvivenza media è di 4-8 settimane; con chemioterapia, può estendersi fino a 6-12 mesi, e circa il 20% dei cani sopravvive fino a 2 anni dalla diagnosi. L'immunofenotipo è il principale indicatore prognostico che influenza la sopravvivenza nei cani con linfoma: i soggetti con linfoma aggressivo a cellule B presentano un tempo medio di sopravvivenza circa doppio rispetto a quelli con linfoma aggressivo a cellule T.⁶

Il quadro clinico più comune è il linfoma multicentrico (83%) mentre le forme cutanee (12%) o extranodali (5%) sono meno frequenti.⁷ L'esame citologico è la tecnica diagnostica di prima scelta, con un'elevata sensibilità (92,6%) e specificità (89,4%). A supporto della prognosi e del trattamento, è possibile confermare un risultato citologico incerto mediante esame istologico o PCR per il riarrangiamento del recettore dell'antigene (PARR), identificare i sottotipi tramite esame istologico e immunoistochimico, oppure effettuare l'immunofenotipizzazione con PARR o citometria a flusso.^{1,8-11} Due studi hanno evidenziato che circa il 25% degli aspirati linfonodali inviati ai laboratori risulta non diagnostico, causando ritardi nella diagnosi e nel trattamento.^{12,13} In alcuni casi, la combinazione delle suddette tecniche si rende necessaria per risolvere risultati dubbi.

Il test IDEXX Cancer Dx™ utilizza tecnologie diagnostiche multimodali per rilevare biomarcatori circolanti associati al linfoma canino. Il test IDEXX Cancer Dx™ supera molte delle attuali difficoltà diagnostiche, consentendo l'individuazione del linfoma da un semplice campione di sangue e fornendo informazioni sull'immunofenotipo che facilitano il processo decisionale clinico e supportano la comunicazione con i clienti in merito a prognosi e opzioni terapeutiche. Questo test è indicato per cani con sospetto di linfoma e in cani apparentemente sani, a rischio aumentato di sviluppare neoplasie maligne (cani di età pari o superiore a 7 anni e le razze considerate a rischio a partire dai 4 anni), quale parte di una visita di screening preventivo.

Razze a maggior rischio di linfoma

Rischio aumentato di neoplasie maligne (in generale), incluso il linfoma

- + Golden retriever¹⁴
- + Bulldog francese²
- + Beagle¹⁵
- + Boxer¹⁵
- + Schnauzer nano¹⁵
- + Bovaro del Bernese¹⁶
- + Flat-coated retriever¹⁶
- + Scottish terrier¹⁶
- + Bullmastiff¹⁶

Rischio aumentato di linfoma

- + Labrador retriever¹⁷
- + Rottweiler¹⁸
- + Doberman pinscher¹⁹
- + Bulldog inglese¹
- + Boxer¹⁹
- + Pastore tedesco¹⁹
- + Bovaro del Bernese¹⁹
- + Beagle¹⁹
- + Cocker spaniel inglese¹⁹

Metodi e popolazione di pazienti

I campioni sono stati raccolti da due gruppi specialistici privati e da un'università per valutare cani con linfoma confermato, cani affetti da malattie non correlate al linfoma e cani sani, utilizzando il test IDEXX Cancer Dx. Il linfoma è stato confermato tramite esame istologico con immunoistochimica oppure mediante esame citologico con immunocitochimica, PARR o citometria a flusso. I cani che avevano ricevuto chemioterapia, terapia steroidea o immunosoppressiva nel mese precedente alla raccolta del campione sono stati esclusi dall'analisi di sensibilità e specificità. Per l'analisi di sensibilità e specificità, sono stati inclusi 105 cani con linfoma confermato e non ancora sottoposti a trattamento, 73 cani con altri processi patologici attivi e 156 cani apparentemente sani. I cani con altri processi patologici attivi comprendevano 61 soggetti con diagnosi di tumori maligni

diversi dal linfoma e 12 soggetti affetti da malattie infiammatorie. I cani apparentemente sani presentavano un esame obiettivo normale e nessun reperto significativo all'esame emocromocitometrico e al pannello biochimico. La differenziazione tra cellule B e T, con immunofenotipizzazione tramite IDEXX Cancer Dx™, è stata effettuata sui 83 cani inclusi nell'analisi di sensibilità e specificità, più 24 cani con trattamento in corso per linfoma o storia terapeutica ignota, per un totale di 107 cani.

I campioni raccolti sono stati analizzati singolarmente su più lotti di reagenti, per ciascuna modalità di test. I risultati sono stati valutati per ogni combinazione di lotti di reagenti, fornendo fino a 4 risultati per paziente. La sensibilità, la specificità e i valori predittivi per il rilevamento del linfoma sono stati stimati mediante regressione logistica.²⁰ Gli errori standard dei coefficienti del modello sono stati utilizzati per calcolare gli intervalli di confidenza al 95% in ciascuna analisi statistica. La sensibilità e la specificità del test per la classificazione dell'immunofenotipo sono state stimate mediante regressione logistica, utilizzando modelli separati per linfomi a cellule B e a cellule T, poiché non sono mutuamente esclusivi. L'intervallo di confidenza del 95% per questa analisi statistica è stato stimato tramite ricampionamento bootstrap dei dati ($n = 1.000$).

Gli effetti delle sostanze interferenti sulla performance del test sono stati valutati confrontando le distribuzioni delle concentrazioni tra gruppi di campioni con diversi livelli di interferente. Per questa analisi sono stati utilizzati campioni provenienti da 10.514 pazienti canini, con risultati abbinati del test IDEXX Cancer Dx e delle sostanze interferenti. I gruppi di confronto sono stati definiti con N, 1+, 2+, 3–4+ per emolisi; N, 1+, 2–4+ per lipemia e bilirubina; e <0,1, 0,1, 0,2, >0,2 per bilirubina totale. Per ogni interferente, ciascun gruppo è stato confrontato con il gruppo di riferimento più basso (N o <0,1), valutando le proporzioni delle concentrazioni di IDEXX Cancer Dx che superavano le soglie critiche del test. L'intervallo di confidenza del 95% per questa analisi statistica è stato stimato tramite ricampionamento bootstrap dei dati ($n = 1.000$).

Sensibilità e specificità per il rilevamento del linfoma

Distribuzione	Multicentrico	98 (93,3%) (94 aggressivo, 4 indolente)
	Cutaneo/mucocutaneo	3 (2,9%)
	Mediastinico	3 (2,9%)
	Altro tipo extranodale	1 (0,9%)
Immunofenotipo	B	77 (73,3%)
	T	28 (26,7%)
Stadio	I	2 (3,6%)
	II	1 (1,8%)
	III	40 (71,4%)
	IV	9 (16,1%)
	V	4 (7,1%)
Metodo di immunofenotipizzazione	PARR	25
	Citometria a flusso	45
	Citometria a flusso sconosciuto o PARR	28
	Immunocitochimica	5
	Immunoistochimica	2

Tabella 1. Caratterizzazione dei 105 cani con linfoma, inclusi nell'analisi di sensibilità e specificità.

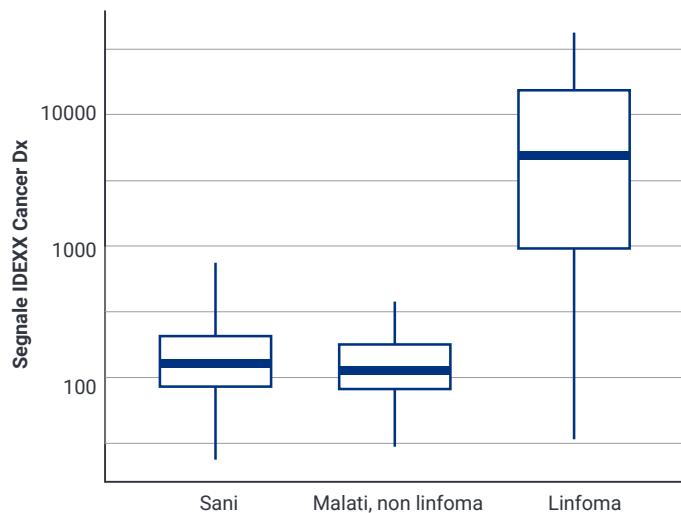


Figura 1. Il test IDEXX Cancer Dx ha individuato il 79,3% (IC al 95%: 70,5%, 86,0%) di casi di linfoma con una specificità del 98,9% (IC al 95%: 96,2%, 99,7%).

Differenziazione del linfoma a cellule B da quello a cellule T

Il test IDEXX Cancer Dx ha fornito un risultato di immunofenotipizzazione nel 56% dei casi con un risultato indicativo di linfoma. Il test IDEXX Cancer Dx ha indicato l'immunofenotipo nel 65,5% (CI al 95%: 54,7%, 74,8%) dei casi di linfomi a cellule B noti con una specificità del 91,3% (CI al 95%: 71,1%, 97,8%) e nell'8,7% (CI al 95%: 2,2%, 28,9%) dei linfomi a cellule T noti con una specificità del 98,8% (CI al 95%: 92,0%, 99,8%).

Immunofenotipo tramite citometria a flusso, ICC, PARR, IHC	Cellule B con IDEXX Cancer Dx	Cellule T con IDEXX Cancer Dx	Indefinito con IDEXX Cancer Dx
Cellule B	55	1	28
Cellule T	2	2	19

Tabella 2. Risultati di immunofenotipizzazione determinati con il test IDEXX Cancer Dx e con metodi tradizionali.

Interferenza intrinseca sui campioni

Lipemia, ittero ed emolisi, quando presenti in forma lieve o moderata, non hanno avuto effetti significativi sul rilevamento del linfoma. Le variazioni osservate nelle distribuzioni dei biomarcatori associate agli interferenti erano ben al di sotto delle soglie critiche decisionali.

Discussione

Il test IDEXX Cancer Dx è uno strumento diagnostico per il linfoma, caratterizzato da elevata sensibilità e specificità, in grado di superare molte delle attuali difficoltà diagnostiche. Un risultato compatibile con linfoma, in base a questo esame diagnostico, offre la sicurezza necessaria per iniziare il trattamento nei pazienti con sospetto clinico di linfoma. Dati preliminari suggeriscono che altre neoplasie linfoproliferative, incluse leucemie acute e croniche e patologie correlate al mieloma, possano presentare risultati IDEXX Cancer Dx compatibili con linfoma, a causa dell'origine comune da cellule linfoidi. Se il quadro clinico non è compatibile con il linfoma ma suggerisce altre neoplasie linfoproliferative, è necessario integrare le informazioni cliniche con eventuali ulteriori strumenti diagnostici per arrivare ad una diagnosi definitiva.

Due pazienti affetti da altre neoplasie maligne presentavano risultati IDEXX Cancer Dx™ compatibili con linfoma. Al primo è stato diagnosticato un mastocitoma sulla base dell'esame istologico della lesione primaria e dell'esame citologico di un linfonodo, circa un anno dopo. Ulteriori indagini del caso sono in corso, incluso l'esame PARR eseguito su un campione di sangue del paziente, che ha rilevato una popolazione clonale di cellule B. Il secondo caso è stato diagnosticato come sospetto sarcoma splenico, sulla base dell'esame istologico. Sono in corso ulteriori indagini su questo caso, inclusa una revisione dell'esame istologico, che solleva il sospetto di un plasmocitoma extramidollare.

Nei cani sani, la diagnosi di linfoma tramite IDEXX Cancer Dx è rara: si stima che meno di 1 cane su 1.000 riceva questa diagnosi nell'arco di un anno. Tuttavia, nei pazienti con un rischio aumentato di neoplasie maligne, risultati compatibili con linfoma possono favorire una diagnosi precoce. Poiché la prevalenza del linfoma nei cani sani è molto bassa, lo screening potrebbe comunque generare falsi positivi, anche se il test presenta un'elevata specificità. Si raccomandano quindi un attento esame clinico e un piano di monitoraggio mirato per favorire la diagnosi precoce nei soggetti apparentemente sani.

Il test IDEXX Cancer Dx è un esame del sangue minimamente invasivo che consente di rilevare il linfoma e di effettuare l'immunofenotipizzazione. Quest'ultima è disponibile nel 56% dei casi in cui il risultato del test è compatibile con linfoma, senza costi aggiuntivi, e nel 66% dei cani con linfoma a cellule B. Le differenze biologiche tra i linfomi, la sede anatomica e il sottotipo tumorale possono influenzare la frequenza dei risultati di rilevazione del linfoma e dell'immunofenotipizzazione. Come per gli altri esami diagnostici oggi disponibili, se persiste un forte sospetto di linfoma nonostante un risultato IDEXX Cancer Dx non compatibile con linfoma, è raccomandato un approfondimento diagnostico con esami aggiuntivi come esame citologico o istologico, al fine di ottenere una diagnosi definitiva.

Conclusioni

Il test IDEXX Cancer Dx™ offre uno strumento diagnostico altamente sensibile e specifico per identificare il linfoma in fase precoce nei pazienti con sospetto di linfoma o nei cani a maggior rischio di neoplasia per età o razza, utilizzando campioni comunemente raccolti. Il test IDEXX Cancer Dx offre anche l'opportunità di ottenere un immunofenotipo sullo stesso campione, senza costi aggiuntivi, per fornire informazioni utili alla prognosi e al trattamento.

Riferimenti bibliografici

- Vail DM, Pinkerton M, Young KM. Hematopoietic tumors. In: Vail DM, Thamm DH, Liptak JM. *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology*. 6th ed. Saunders; 2020:688–772. Accesso effettuato il 6 ottobre 2025. www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323594967000335/pdf
- Rafalko JM, Kruglyak KM, McCleary-Wheeler AL, et al. Age at cancer diagnosis by breed, weight, sex, and cancer type in a cohort of more than 3,000 dogs: Determining the optimal age to initiate cancer screening in canine patients. *PLoS One*. 2023;18(2):e0280795. doi:10.1371/journal.pone.0280795
- Wolf-Ringwall A, Lopez L, Elmslie R, et al. Prospective evaluation of flow cytometric characteristics, histopathologic diagnosis and clinical outcome in dogs with naïve B-cell lymphoma treated with a 19-week CHOP protocol. *Vet Comp Oncol*. 2020;18(3):342–352. doi:10.1111/vco.12553
- Hosoya K, Kisselberth WC, Lord LK, et al. Comparison of COAP and UW-19 protocols for dogs with multicentric lymphoma. *J Vet Intern Med*. 2007;21(6):1355–1363. doi:10.1111/j.1939-1676.2007.tb01959.x
- MacDonald VS, Thamm DH, Kurzman ID, Turek MM, Vail DM. Does l-asparaginase influence efficacy or toxicity when added to a standard CHOP protocol for dogs with lymphoma? *J Vet Intern Med*. 2005;19(5):732–736. doi:10.1111/j.1939-1676.2005.tb02753.x
- Bailey DB. Hematopoietic tumors. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E, eds. *Ettinger's Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 9th ed. Elsevier; 2024:2240–2254.
- Ponce F, Marchal T, Magnol JP, et al. A morphological study of 608 cases of canine malignant lymphoma in France with a focus on comparative similarities between canine and human lymphoma morphology. *Vet Pathol*. 2010;47(3):414–433. doi:10.1177/0300985810363902
- Thalheim L, Williams LE, Borst LB, Fogle JE, Suter SE. Lymphoma immunophenotype of dogs determined by immunohistochemistry, flow cytometry, and polymerase chain reaction for antigen receptor rearrangements. *J Vet Intern Med*. 2013;27(6):1509–1516. doi:10.1111/jvim.12185
- Riondato F, Comazzi S. Flow cytometry in the diagnosis of canine B-cell lymphoma. *Front Vet Sci*. 2021;8:600986. doi:10.3389/fvets.2021.600986
- Martini V, Marano G, Aresu L, et al. Performance of lymph node cytopathology in diagnosis and characterization of lymphoma in dogs. *J Vet Intern Med*. 2022;36(1):204–214. doi:10.1111/jvim.16326
- Avery A. Molecular diagnostics of hematologic malignancies. *Top Companion Anim Med*. 2009;24(3):144–150. doi:10.1053/j.tcam.2009.03.005
- Amores-Fuster I, Cripps P, Graham P, Marrington AM, Blackwood L. The diagnostic utility of lymph node cytology samples in dogs and cats. *J Small Anim Pract*. 2015;56(2):125–129. doi:10.1111/jsp.12303
- Fournier Q, Cazzini P, Bavcar S, Peccue E, Ballber C, Elders R. Investigation of the utility of lymph node fine-needle aspiration cytology for the staging of malignant solid tumors in dogs. *Vet Clin Pathol*. 2018;47(3):489–500. doi:10.1111/vcp.12636
- Nelson B, Faquin W. Retrieving new clues about a dog breed's "insane" cancer risk. *Cancer Cytopathol*. 2024;132(9):541–542. doi:10.1002/cncy.22899
- Aupperle-Lellbach H, Grassinger JM, Floren A, et al. Tumour incidence in dogs in Germany: a retrospective analysis of 109,616 histopathological diagnoses (2014–2019). *J Comp Pathol*. 2022;198:33–55. doi:10.1016/j.jcpa.2022.07.009
- Nunney L. The effect of body size and inbreeding on cancer mortality in breeds of the domestic dog: a test of the multi-stage model of carcinogenesis. *R Soc Open Sci*. 2024;11(1):231356. doi:10.1098/rsos.231356
- Bennett PF, Taylor R, Williamson P. Demographic risk factors for lymphoma in Australian dogs: 6201 cases. *J Vet Intern Med*. 2018;32(6):2054–2060. doi:10.1111/jvim.15306
- Dobson JM. Breed-predispositions to cancer in pedigree dogs. *ISRN Vet Sci*. 2013;2013:941275. doi:10.1155/2013/941275
- Comazzi S, Marelli S, Cozzi M, et al. Breed-associated risks for developing canine lymphoma differ among countries: an European canine lymphoma network study. *BMC Vet Res*. 2018;14(1):232. doi:10.1186/s12917-018-1557-2
- Coughlin SS, Trock B, Criqui MH, Pickle LW, Browner D, Tefft MC. The logistic modeling of sensitivity, specificity, and predictive value of a diagnostic test. *J Clin Epidemiol*. 1992;45(1):1–7. doi:10.1016/0895-4356(92)90180-u

Ringraziamenti

Desideriamo ringraziare Ethos Veterinary Health, MedVet e l'Università di Guelph—Ontario Veterinary College per il loro prezioso contributo alla fornitura dei campioni utilizzati in questo studio. Il loro supporto e la loro collaborazione sono stati fondamentali per il completamento con successo di questa ricerca.

© 2025 IDEXX Laboratories, Inc. Tutti i diritti riservati. • 09-2692314-00

Tutti i marchi ®/TM sono di proprietà di IDEXX Laboratories, Inc. o delle sue affiliate negli Stati Uniti e/o in altri paesi. L'informatica sulla privacy di IDEXX è disponibile sul sito idexx.com.