

# Test Catalyst™ Cortisolo: uno strumento accurato e affidabile, per la valutazione del cortisolo nei cani, direttamente in clinica.

## Introduzione

L'ipoadrenocorticismo e la sindrome di Cushing (ipercortisolismo) sono disturbi endocrini relativamente poco comuni nel cane, per i quali una diagnosi accurata e una gestione efficace sono fondamentali.<sup>1-4</sup> Nel caso dell'ipoadrenocorticismo, un intervento tempestivo può essere salvavita, mentre un trattamento adeguato per la sindrome di Cushing può migliorare significativamente la qualità di vita del paziente e ridurre il carico emotivo e gestionale del proprietario.

Sebbene i test del cortisolo in clinica (point-of-care, POC) siano disponibili da tempo, la maggior parte dei clinici si affida a laboratori veterinari commerciali per la misurazione del cortisolo, data la necessità di elevata precisione e accuratezza analitica.<sup>5</sup> Tuttavia un test POC in grado di offrire prestazioni paragonabili a quelle di un laboratorio di riferimento potrebbe apportare numerosi vantaggi clinici. Ad esempio, un singolo risultato del cortisolo basale  $\geq 2.00 \mu\text{g/dl}$  ( $55.2 \text{ nmol/l}$ ) fornisce uno strumento pratico ed efficace per escludere l'ipoadrenocorticismo nei cani che presentano segni clinici o alterazioni clinico-patologiche compatibili, come problemi gastrointestinali cronici, vomito o diarrea acuti, ipoalbuminemia o squilibri elettrolitici.<sup>6-9</sup>

Disporre di risultati affidabili del cortisolo già durante la visita consente una comunicazione tempestiva e diretta con i proprietari dell'animale. Questo non solo supporta un processo decisionale condiviso ma può anche migliorare la comprensione da parte del cliente e il rispetto delle raccomandazioni diagnostiche e terapeutiche.

Il presente studio ha valutato le prestazioni analitiche di un nuovo saggio immunologico in clinica (POC), il test Catalyst™ Cortisolo, per la quantificazione delle concentrazioni di cortisolo nel siero canino.

## Materiali e metodi

### Confronto dei metodi

È stato condotto uno studio di confronto tra metodi per valutare l'accuratezza del test Catalyst Cortisolo in un contesto clinico, utilizzando 705 campioni di siero o plasma canino, raccolti originariamente per finalità cliniche. Questi campioni sono stati analizzati mediante analizzatori biochimici Catalyst presenti in 18 cliniche veterinarie negli Stati Uniti. Il siero residuo di ciascun paziente è stato inviato ai Laboratori IDEXX, dove le concentrazioni di cortisolo sono state misurate mediante il test IMMULITE™ per il cortisolo veterinario, eseguito su IMMULITE™ 2000 Immunoassay System. La media di due repliche del test IMMULITE™ per il cortisolo veterinario è stata utilizzata come standard di riferimento per il confronto.

La correlazione (R) e il bias tra il test Catalyst Cortisolo e il metodo di riferimento sono stati valutati mediante la regressione di Passing-Bablok. Tutte le analisi di confronto tra metodi sono state eseguite in conformità alle linee guida CLSI EP09c.<sup>10</sup>

### Precisione

La precisione analitica è stata valutata utilizzando campioni di siero canino miscelati (pooled), preparati a diverse concentrazioni di cortisolo, come riportato nella tabella 1. Il test è stato eseguito per 10 giorni consecutivi su due analizzatori biochimici Catalyst Dx™ e due analizzatori biochimici Catalyst One™. Ogni giorno sono state effettuate quattro misurazioni ripetute da ciascun analizzatore, sia al mattino che al pomeriggio, al fine di valutare la variabilità intra- e intergiornaliera. Tutte le analisi di precisione sono state eseguite in conformità alle linee guida CLSI EP05-A3.<sup>11</sup>

### Cross-reattività

Comprendere la cross-reattività degli anticorpi con altri ormoni steroidei è fondamentale nella valutazione dei test per il cortisolo, poiché la reattività crociata può influire sulla sua utilità clinica. Per valutarlo, campioni di siero canino miscelati (pooled), a due concentrazioni di cortisolo ( $2.10 \mu\text{g/dl}$  ( $57.9 \text{ nmol/l}$ ) e  $25.00 \mu\text{g/dl}$  ( $689.7 \text{ nmol/l}$ )), sono stati suddivisi in aliquote e addizionati con 13 sostanze, tra ormoni steroidei naturalmente presenti e farmaci corticosteroidi comunemente somministrati (tabella 2). Ogni campione addizionato è stato analizzato in 12 repliche con gli analizzatori biochimici Catalyst, e i valori medi sono stati utilizzati per calcolare la percentuale di cross-reattività secondo la seguente formula:

$$\text{Percentuale di cross-reattività} = \frac{[(\text{risultato addizionato} - \text{risultato effettivo}) / \text{concentrazione dello steroide}] \times 100}{1}$$

### Sostanze interferenti

Per il test di interferenza sono stati preparati campioni di siero canino miscelati (pooled) con concentrazioni di cortisolo elevate ( $31.2 \mu\text{g/dL}$  [ $860.7 \text{ nmol/L}$ ]) e basse ( $2.1 \mu\text{g/dL}$  [ $57.9 \text{ nmol/L}$ ]), visivamente privi di sostanze interferenti. Per valutare il potenziale impatto di interferenti comuni (emolisi, lipemia e ittero), sono stati usati, rispettivamente, emolisato di globuli rossi canini<sup>†</sup>, Intralipid™<sup>‡</sup> e ditaurobilirubina<sup>§</sup>. Le aliquote del siero canino miscelato (pooled) sono state addizionate con concentrazioni variabili di ciascun interferente, come dettagliato nella tabella 3. Tutti i campioni sono stati successivamente analizzati sia con l'analizzatore biochimico Catalyst One™ che con Catalyst Dx™, al fine di valutare la robustezza del test rispetto a queste sostanze. È stato calcolato il bias medio in percentuale con la seguente formula:

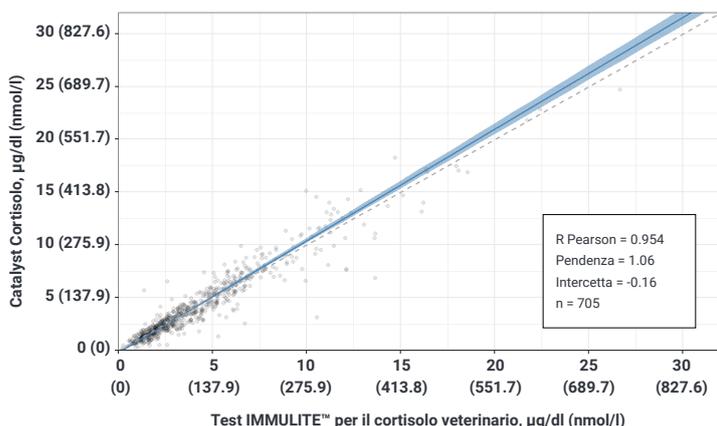
$$\text{Bias medio percentuale} = \frac{(\text{risultato addizionato} - \text{risultato effettivo})}{\text{risultato effettivo}} \times 100$$

Tutte le analisi di interferenza sono state eseguite in conformità alle linee guida CLSI EP07.<sup>12</sup>

## Risultati

### Confronto dei metodi

La figura 1 mostra un grafico di regressione utilizzato per valutare la correlazione sull'intero intervallo dinamico del test. Il test Catalyst Cortisolo presenta una correlazione eccellente ( $R = 0.95$ ) con il metodo di riferimento e un bias da minimo ad assente (pendenza 1.06).



**Figura 1.** Grafico di correlazione (regressione di Passing-Bablok) dei confronti tra coppie di misurazioni tra il test Catalyst™ Cortisolo e il test IMMULITE™ per il cortisolo veterinario, su campioni canini nell'intervallo misurabile. La linea di adattamento ottimale (regressione lineare) viene indicata sul grafico (linea continua blu), con l'intervallo di confidenza al 95% (area ombreggiata) e  $X = Y$  (linea tratteggiata grigia).

### Precisione

I risultati dello studio sulla precisione sono sintetizzati nella tabella 1. L'analisi ha mostrato un coefficiente di variazione totale (%CV) inferiore al 10% nelle concentrazioni di cortisolo clinicamente rilevanti (2.1 mg/dl (57.9 nmol/l)-20.4 µg/dl (562.8 nmol/l)), a indicare un'eccellente precisione analitica per l'uso veterinario.

### Cross-reattività

Il profilo di cross-reattività del test Catalyst Cortisolo è riportato nella tabella 2. La cross-reattività con ormoni steroidei naturalmente presenti non è ritenuta tale da influenzare l'interpretazione clinica dei risultati. La cross-reattività del test con farmaci glucocorticoidi comunemente utilizzati risulta comparabile a quella osservata in altri test commerciali per il dosaggio del cortisolo. Ad esempio, i campioni provenienti da pazienti trattati con prednisone o prednisolone possono mostrare concentrazioni di cortisolo falsamente elevate, mentre il desametasone ha un'influenza minima.

### Sostanze interferenti

I risultati relativi alle sostanze interferenti sono sintetizzati nella tabella 3. Non sono state osservate interferenze nei campioni lipemici. Tuttavia, l'ittero e l'emolisi da moderata a marcata hanno influito sui risultati. L'impiego di campioni contenenti queste sostanze interferenti è pertanto sconsigliato per l'esecuzione di questo test.

## Conclusione

Il test Catalyst Cortisolo mostra un bias minimo, un'eccellente precisione e una forte correlazione con il test IMMULITE™ per il cortisolo veterinario, a supporto dell'accuratezza e dell'affidabilità nelle misurazioni del cortisolo nei cani direttamente in clinica.

I campioni itterici o con emolisi da moderata a grave devono essere evitati, poiché tali condizioni potrebbero influire sulla prestazione del test.

I farmaci corticosteroidi, come prednisone e prednisolone, mostrano cross-reattività con il test e potrebbero determinare concentrazioni di cortisolo falsamente elevate. Il test dovrebbe essere posticipato nei pazienti in trattamento con corticosteroidi fino al termine di un adeguato periodo di sospensione, che dipende dal tipo di farmaco, dal dosaggio e dalla durata della terapia.

Sebbene il desametasone non presenti cross-reattività con il test Catalyst Cortisolo, la sua somministrazione altera la funzione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Pertanto, si raccomanda di eseguire il test del cortisolo prima della somministrazione di desametasone nei pazienti con sospetto di ipoadrenocorticismo.

Concentrazione media, µg/dl (nmol/l)	Deviazione standard, µg/dl (nmol/l)	Coefficiente di variazione (%)	Numero di repliche
2.10 (57.9)	0.14 (3.9)	7.75	320
6.30 (173.8)	0.29 (8)	5.39	320
20.40 (562.8)	1.11 (20.3)	6.81	320

**Tabella 1.** Sintesi dei risultati dello studio sulla precisione.

Tipo di composto	Composto	Concentrazione del composto, µg/dl (nmol/l)	% cross-reattività con il test Catalyst™ Cortisolo (concentrazione cortisolo basale 2.10 µg/dl)	% cross-reattività con il test Catalyst Cortisolo (concentrazione cortisolo basale 25.00 µg/dl)
Ormone presente naturalmente	Corticosterone	400 (11034.5)	7.12	5.18
	Cortisone	400 (11034.5)	11.24	8.56
	11-deossicortisolo	100 (2758.6)	10.27	2.93
	17-alfa-idrossiprogesterone	400 (11034.5)	0.05	0.11
	Aldosterone	1.000 (27586.2)	0.13	0.15
	Progesterone	400 (11034.5)	0.03	0.23
Terapia farmacologica	Metilprednisolone	200 (5517.2)	0.10	0.57
	Desossicorticosterone pivalato (DOCP)	400 (11034.5)	0.03	0.28
	Desametasone (1)	400 (11034.5)	0.02	0.51
	Desametasone (2)	4.000 (110344)	0.01	0.04
	Fludrocortisone	1.000 (27586.2)	4.09	2.75
	Prednisolone	8 (220.7)	23.87	15.56
	Prednisone	16 (441.4)	1.51	1.51
	Triamcinolone	5.000 (137931)	<0.01	0.02

Tabella 2. Sintesi dello studio sulla cross-reattività con le cross-reattività calcolate.

Sostanza interferente	Livello di interferenza	Concentrazione test Catalyst Cortisolo, µg/dl (nmol/l)		% Bias medio	
		Bassa	Alto	Bassa	Alto
Emolisi	Controllo/non addizionato	2.15 (59.3)	30.29 (835.6)	–	–
	25	2.28 (62.9)	31.08 (857.4)	6.0	2.6
	150	2.55 (70.3)	31.02 (855.7)	18.6	2.4
	250	2.53 (69.8)	30.55 (842.8)	17.7	0.9
	500	2.37 (65.4)	28.29 (780.4)	10.2	-6.6
Lipemia	Controllo/non addizionato	2.18 (60.1)	31.49 (868.7)	–	–
	125	2.12 (58.5)	31.05 (856.6)	-2.8	-1.4
	250	2.12 (58.5)	31.05 (856.6)	-3.0	-1.4
	500	2.12 (58.5)	30.67 (846.1)	-2.7	-2.6
Ittero	Controllo/non addizionato	2.07 (57.1)	31.77 (876.4)	–	–
	0.5	2.14 (59)	29.88 (824.3)	3.3	-5.4
	1.0	2.24 (61.8)	28.36 (782.3)	8.3	-10.7
	2.0	2.40 (66.2)	25.42 (701.2)	15.8	-20.0

Tabella 3. Sintesi dei risultati dello studio sulle sostanze interferenti con bias calcolato.

Riferimenti bibliografici

- Behrend EN, Kooistra HS, Nelson R, Reusch CE, Scott-Moncrieff JC. Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 ACVIM consensus statement (small animal). *J Vet Intern Med.* 2013;27(6):1292–1304. doi:10.1111/jvim.12192
- Bugbee A, Rucinsky R, Cazabon S, et al. 2023 AAHA Selected Endocrinopathies of Dogs and Cats Guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2023;59(3):113–135. doi:10.5326/JAAHA-MS-7368
- Galac S. Hyperadrenocorticism (Cushing's syndrome) in dogs. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, eds. *Ettinger's Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult.* Vol 2. 9a ed. Elsevier; 2024:2004–2021.
- Hess RS. Hypoadrenocorticism. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, eds. *Ettinger's Textbook of Veterinary Internal Medicine Expert Consult.* Vol 2. 9a ed. Elsevier; 2024:2036–2045.
- European Society of Veterinary Endocrinology. Project ALIVE. Consultato il 29 giugno 2025. [www.esve.org/alive/intro.aspx](http://www.esve.org/alive/intro.aspx)
- Bovens C, Tennant K, Reeve J, Murphy KF. Basal serum cortisol concentration as a screening test for hypoadrenocorticism in dogs. *J Vet Intern Med.* 2014;28(5):1541–1545. doi:10.1111/jvim.12415
- Galleo AF, Gow AG, Boag AM. Evaluation of resting cortisol concentration testing in dogs with chronic gastrointestinal signs. *J Vet Intern Med.* 2022;36(2):525–531. doi:10.1111/jvim.16365
- Gold AJ, Langlois DK, Refsal KR. Evaluation of basal serum or plasma cortisol concentrations for the diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs. *J Vet Intern Med.* 2016;30(6):1798–1805. doi:10.1111/jvim.14589
- Lennon EM, Boyle TE, Hutchins RG, et al. Use of basal serum or plasma cortisol concentrations to rule out a diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs: 123 cases (2000–2005). *JAVMA.* 2007;231(3):413–416. doi:10.2460/javma.231.3.413
- CLSI. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples.* 3<sup>a</sup> ed. CLSI document EP09c. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline.* 3<sup>a</sup> ed. CLSI document EP05 A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, ottobre 2014; confermato a settembre 2019.
- CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry.* 3<sup>a</sup> ed. CLSI document EP07 Ed3. Clinical and Laboratory Standards Institute; 30 aprile 2018; confermato a ottobre 2022.

\*Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, California, USA.

<sup>†</sup> Lisato da globuli rossi canini lavato in soluzione salina e lisato in acqua senza tensioattivo

<sup>‡</sup>Intralipid™ (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA), un olio di semi di soia stabilizzato con fosfolipidi.

<sup>§</sup>Bilirubina coniugata (Scripps Laboratories, San Diego, California, USA; catalog number: B0114), ditaurobilirubina sintetica.