

Präanalytik in der Endokrinologie bei Hund und Katze

Präanalytik? Was ist das überhaupt und wie kann sie meine Ergebnisse beeinflussen?

Die Präanalytik umfasst alle Bereiche VOR der eigentlichen Analyse des Probenmaterials. Hierzu gehört die Indikationsstellung für die jeweilige Analyse, welche sich aus Anamnese und klinischer Untersuchung ergibt, die Patientenvorbereitung, Auswahl der korrekten Probe und Probengefäße, die Probenentnahme und Probenvorbereitung, der Probentransport, die Probenlagerung und Probenaufarbeitung, kurz: der gesamte Weg der Probe bis hin zur Analyse.

Diverse Studien haben sich mit dem Thema Fehlerquellen bei Laboruntersuchungen beschäftigt. Dabei zeigt sich, wie extrem wichtig das „Davor“ ist. Angefangen bei der richtigen Testauswahl über Probenentnahme und Transportbedingungen haben wir viele Einflussfaktoren bei der Präanalytik (Abb.1). Gerade beim Thema Endokrinologie sind die Anforderungen an die Probe aufgrund der vielfach kapriziösen Eigenschaften der Hormone im Hinblick auf ihre Stabilität und die Beeinflussbarkeit der Messung durch die Probenqualität hoch.

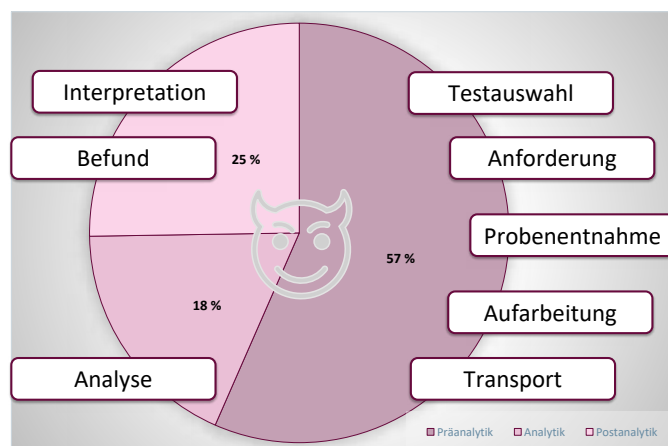


Abb. 1: Die größte Fehlerquelle bei der Untersuchung von Laborproben liegt in der Präanalytik (nach Nordin et al. 2024)
Bildquelle: Laboklin

Die im Folgenden angegebenen Angaben zum Probenmaterial beziehen sich auf aktuell gebräuchliche Messmethoden für verschiedene Analyte bei Laboklin. Aufgrund von Weiterentwicklungen können sich die Anforderungen mit der Zeit ändern. Im Zweifels-

fall ist ein schneller Anruf im Labor vor der Probenentnahme empfehlenswert.

Ganz grundsätzlich gilt: Starke Hämolyse oder Lipämie von Blutproben sollten vermieden werden. Häufige Gründe für eine hämolytische Probe sind langes Stauen, schwierige Punktionen, Koagulation des Serums im Kühlschrank statt bei Raumtemperatur und insbesondere fehlendes Abtrennen von Serum/Plasma vor dem Versand. Viele Hormontests wurden mit nüchtern entnommenem Blut validiert. Daher empfiehlt sich für Hormonmessungen generell die Nüchternblutentnahme. Dies reduziert gleichsam das Auftreten lipämischer Proben.

Schilddrüse

T4 (gesamt - TT4, freies - fT4) und T3

Indikationen: Screening Hypothyreose, Screening und Diagnose Hyperthyreose

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme:

T4-Konzentrationen können durch nicht-thyreoidale Erkrankungen (non-thyroidal illness, NTI) und verschiedene Medikamente reduziert sein. Freies T4 ist etwas weniger stark von diesen Einflüssen betroffen, die Konzentration kann aber ebenfalls durch NTI und Medikamente vermindert sein. Eine Differenzierung zu einer tatsächlichen Schilddrüsenunterfunktion bedarf weiterer Diagnostik.

Messmethoden: Die Bestimmung ist mit zwei verschiedenen Methoden möglich.

1. CLIA (Chemilumineszenz-Immuno-Assay) – der Test basiert auf einer immunologischen Bindung des T4-Moleküls. Für das initiale Screening ist diese (kostengünstigere) Methode oft ausreichend.
2. LC-MS/MS (Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry). Diese setzt sich zunehmend als Goldstandard durch. Sie gilt als besonders präzise, da ausschließlich das T4-Molekül gemessen wird und somit keine Interferenzen durch Metabolite oder Antikörper entstehen. Die LC-MS/MS-Messung steht bei Laboklin für T4, T3 und rT3 (s. u.) zur Verfügung.

Probenmaterial: Serum (LC-MS/MS zwingend, CLIA präferiert).

Gut zu wissen: TT4 und fT4 bleiben bei Raumtemperatur für drei bis fünf Tage stabil. Bei fT4 kann es nach > 5 Tagen und/oder bei hohen Umgebungstemperaturen (2 Tage) zu einer Dissoziation des T4 von den Bindungsproteinen kommen, was zu falsch hohen fT4-Konzentrationen führt. Freie Fettsäuren können einen ähnlichen Effekt haben. fT4 steigt dann in der Blutprobe an, was zu Fehlinterpretationen führen kann.

TSH

Indikationen: Abklärung einer Hypothyreose, Therapiekontrolle

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: Bei einer niedrigen T4-Konzentration und passender klinischer Symptomatik bestätigt ein erhöhtes TSH in der Regel das Vorliegen einer Hypothyreose. Allerdings liegen bei ca. 30 % der hypothyreoten Hunde niedrige TSH-Konzentrationen vor. In diesem Fall ist eine weitere Diagnostik zur Differenzierung von NTI und Hypothyreose notwendig.

Messmethode: CLIA

Probenmaterial: Serum

Gut zu wissen: TSH ist bei Raumtemperatur 24 Stunden, gekühlt (2–8 °C) sieben Tage stabil.

Reverses T3 (rT3)

Indikationen: Hilfestellung zur Differenzierung von NTI und Hypothyreose bei reduzierter T4-Konzentration ohne Erhöhung von TSH beim Hund; Hilfestellung bei Hyperthyreose-Verdacht bei der Katze wenn T4 nicht erwartungsgemäß erhöht ist

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: rT3 ist ein sehr vielversprechender Parameter. Dennoch muss die Interpretation im klinischen Kontext und in Kombination mit weiteren Schilddrüsenparametern erfolgen.

Messmethode: LC-MS/MS

Probenmaterial: Serum

Gut zu wissen: rT3 ist bei Raumtemperatur 14 Tage stabil.

Autoantikörper (gegen Thyroglobulin, T3, T4)

Indikationen: Verdacht auf Interferenzen mit T4-CLIA Messung, Zuchtthygiene/Zuchtzulassung

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: Immunsuppression (Medikamente) und Immunstimulation (z. B. Impfungen) könnten zu veränderten Antikörperkonzentrationen führen, was bei der Befundinterpretation berücksichtigt werden sollte.

Messmethode: ELISA. Es wird entweder ein quantitatives (prozentualer Anteil in der Probe) oder qualitatives (positiv/negativ) Ergebnis angegeben.

Probenmaterial: Serum

Gut zu wissen: Antikörper sind relativ stabil. Bei Transportzeiten > 48 Stunden sollte die Probe jedoch gekühlt versandt werden. Für die Antikörper-Bestimmung ist die Probenqualität besonders wichtig (Probe zwingend sauber trennen, keine Hämolyse, keine Lipämie).

Nebenschilddrüse (Parathyroidea)

Parathormon (PTH)

Indikationen: Abklärung eines Hyper- oder Hypoparathyroidismus

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: Da für die Interpretation die Korrelation mit der Calcium-Konzentration im Blut zum Zeitpunkt der Blutentnahme für PTH entscheidend ist, sollte die Bestimmung von PTH und Calcium aus derselben Serumprobe bzw. aus Serum, das zum selben Entnahmezeitpunkt gewonnen wurde, erfolgen.

Probenmaterial: Serum

Messmethode: CLIA

Gut zu wissen: PTH ist instabil. Die präanalytische Handhabung ist daher von großer Bedeutung. Probe koagulieren lassen (nicht länger als 30 Minuten) dann sofort abzentrifugieren und abpipettieren. Das abgetrennte Serum muss tiefgefroren gelagert und versandt werden. Mindestens erfolgt der Versand mit vorgefrorenen Kühlakkus, optimal mit Trockeneis.

Nebenniere

Cortisol

Indikationen: Screening-Parameter zum Ausschluss eines Hypoadrenokortizismus, Messung im Rahmen von ACTH-Stimulationstest und Dexamethason-Suppressionstest

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: Cortisol wird bei Stress (emotional und körperlich) vermehrt ausgeschüttet. Dies wirkt sich auf die Funktionstests aus. Insbesondere der Dexamethason-Suppressionstest sollte nach Behebung von Begleiterkrankungen und so stressarm wie möglich durchgeführt werden.

Messmethode: CLIA; LC-MS/MS bei besonderen Fragestellungen möglich. In der Routinediagnostik wird Cortisol mittels immunologischer Messverfahren (CLIA) bestimmt. In der Humanmedizin setzt sich auch beim Cortisol die Messung mittels LC-MS/MS als eine hochspezifische und präzise Messmethode mehr und mehr durch.

Probenmaterial: Bestimmung im Plasma möglich. Im Sinne der Standardisierung von Hormonmessungen wird jedoch Serum bevorzugt. Insbesondere sollte

aber für Verlaufsuntersuchungen und Funktions-tests immer das gleiche Probenmaterial verwendet werden.

Gut zu wissen: Cortisol ist in Serumproben grundsätzlich bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 3–5 Tagen stabil. Eine deutliche Lipämie kann die Cortisol-Messung mittels immunologischer Verfahren beeinflussen. Auch wenn es an sich nicht notwendig ist, dass der Patient für einen Funktions-test nüchtern ist, kann es daher ratsam sein, vor der Testdurchführung nur eine kleine und/oder fettreduzierte Mahlzeit füttern zu lassen.

Urin-Cortisol-Kreatinin-Quotient (UCCR)

Indikation: Screening für ein mögliches Cushing-Syndrom

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: Urinproben zur Bestimmung des UCCR werden idealerweise morgens und in stressfreier Umgebung mit mindestens zwei Tagen Abstand zum Tierarztbesuch gewonnen. Vor der Einsendung sollte ein Harnwegsinfekt ausgeschlossen werden (Harnstatus mit Sedimentuntersuchung).

Messmethode: Bei der Bestimmung von Cortisol im Urin ist es bei einem der in der Tiermedizin weit verbreiteten Teste (CLIA, Immulite 2000®, Siemens, Deutschland) durch Veränderungen am Substrat seitens des Herstellers zu Problemen bzgl. der Zuverlässigkeit der Messergebnisse für Hundurin gekommen. Das bei Laboklin eingesetzte Assay betrifft dies nicht.

Endogenes ACTH (eACTH)

Indikationen: Zur weiteren Differenzierung bei Cushing-Syndrom oder Hypoadrenokortizismus (Morbus Addison)

Messmethode: CLIA

Probenmaterial: EDTA-Plasma

Gut zu wissen: Endogenes ACTH ist insbesondere beim Hund im Probenmaterial instabil. Es wird durch endogene Enzyme im Blut schnell abgebaut, was zu falsch niedrigen Ergebnissen führen kann. Bei -20 °C im separierten Plasma eingefroren ist eACTH über längere Zeiten stabil. Das Blut muss daher in vorgekühlten EDTA-Röhrchen abgenommen (Röhrchen am besten vor der Entnahme bei -20 °C im Gefrierschrank kühlen) und sofort zentrifugiert und getrennt werden. Das Plasma wird in ein unbeschichtetes Röhrchen überführt und tiefgefroren versandt. Die Probe sollte optimal gefroren im Labor eintreffen. Probengefäße aus Glas eignen sich nicht, da eACTH an Glas bindet, was die gemessene Konzentration reduziert.

Aldosteron

Indikation: Abklärung Hyperaldosteronismus

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme:

Der Patient sollte ausreichend hydriert sein, da das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) durch Hypovolämie/Dehydratation beeinflusst wird. Bei azotämischen Patienten ist die alleinige Bestimmung von Aldosteron zur Diagnose eines primären Hyperaldosteronismus nicht ausreichend, weil dieses auch bei Nierenerkrankungen ansteigen kann. Die Fütterungszeit kann einen wesentlichen Einfluss auf das RAAS haben, daher wird eine Nüchternblutentnahme explizit empfohlen.

Probenmaterial: Serum

Messmethode: LC-MS/MS. Diese Methode gilt als sehr präzise und den immunologischen Messverfahren überlegen. Wichtig ist in diesem Zusammenhang zu wissen, dass bei der Analyse mittels LC-MS/MS niedrigere Aldosteron-Konzentrationen gemessen werden als bei anderen Verfahren. Dies ist bei den von Laboklin angegebenen Referenzwerten berücksichtigt.

Gut zu wissen: Die Probe sollte so frisch wie möglich (nicht älter als 48 Stunden) sein. Nicht länger als 30 Minuten koagulieren lassen, dann sofort abzentrifugieren und abpipettieren. Die abgetrennte Probe muss schnellstmöglich gekühlt werden und gekühlt im Labor ankommen.

RAAS-Profil (Berechnung der Renin-Aktivität, ACE-Aktivität und der AA2-Ratio)

Indikation: Abklärung eines Hyperaldosteronismus bei Patienten mit gleichzeitiger Azotämie

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme:

Der Patient sollte ausreichend hydriert sein, da das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System durch Hypovolämie/Dehydratation beeinflusst wird. Die Fütterungszeit kann einen wesentlichen Einfluss auf das RAAS haben, daher wird eine Nüchternblutentnahme explizit empfohlen.

Probenmaterial: Serum

Messmethode: Berechnung der Renin-Aktivität nach Messung von Aldosteron, Angiotensin I und Angiotensin II mittels LC-MS/MS. Die Methode ist für die Katze und den Hund validiert.

Gut zu wissen: Angiotensin I + II sind instabil, insbesondere dürfen sie keinen Temperaturen von 4–8 °C ausgesetzt sein. Die Probe muss daher zwingend tiefgefroren im Labor ankommen. Nicht länger als 30 Minuten koagulieren lassen, dann sofort abzentrifugieren und abpipettieren. Serum danach sofort bei -20 °C einfrieren. Die Probe darf nicht im Kühl-

schränk zwischengelagert werden und nach dem Einfrieren bis zum Eintreffen im Labor nicht antauen. Versand auf Trockeneis (!). Das Trockeneis kann von Laboklin bereitgestellt werden. Bitte nehmen Sie vorab Kontakt zur Fachberatung auf.

Katecholamine (Metanephrin, Normetanephrin)

Indikationen: Abklärung eines Phäochromozytoms / Katecholamin-produzierenden Paraganglioms

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: Katecholamine werden bei Stress ausgeschüttet. Somit können Stresssituationen zu einer vermehrten Freisetzung führen.

Die Bestimmung im Urin ist weniger stark von der episodischen Katecholaminfreisetzung beeinflusst als die im Blut. Uringewinnung per Zystozentese oder aufgefangen möglich. Eine Probenentnahme im häuslichen Umfeld ist nicht zwingend erforderlich. Vor der Einsendung sollte jedoch ein Harnwegsinfekt ausgeschlossen werden (Harnstatus mit Sedimentuntersuchung).

Medikamente wie Phenoxybenzamin, Metoclopramid, β -Blocker, Calciumkanalblocker oder Sympathomimetika (Epinephrin, Dopamin, Dobutamin, Phenylpropanolamin, Terbutalin) können falsch-hohe Werte verursachen. Insbesondere sollte beachtet werden, dass die Probengewinnung vor Start einer möglichen Therapie mit Phenoxybenzamin erfolgt.

Messmethode: LC-MS/MS

Probenmaterial: EDTA-Plasma oder Urin (spontan oder Zystozentese)

Gut zu wissen: Im Blut instabil. Die Blutprobe muss sofort abzentrifugiert und das Plasma abgetrennt werden. Nach Überführung in ein unbeschichtetes Probengefäß gekühlt lagern (4 °C, max. 3 Tage stabil) oder bei -20 °C einfrieren. Gekühlter Versand (muss gekühlt im Labor ankommen: vorgefrorene Kühlakkus, optimal Trockeneis).

Im Urin auch bei Raumtemperatur für mehrere Tage stabil. Auf die früher durchgeführte Ansäuerung wird mittlerweile verzichtet. Sowohl in der Human- als auch in der Tiermedizin durchgeführte Studien zeigen, dass sie nicht notwendig ist.

Hypophyse

Insulin-Like-Growth-Factor-1 (IGF-1)

Indikationen: Akromegalie (Hypersomatotropismus), Zwergwuchs (Hyposomatotropismus)

Messmethode: CLIA

Probenmaterial: Serum

Gut zu wissen: Probe koagulieren lassen (nicht länger als 30 Minuten) dann sofort abzentrifugieren und abpipettieren. Das abgetrennte Serum sollte sofort gekühlt werden. Der Versand erfolgt gekühlt. Wenn das Blut schnell abzentrifugiert und getrennt wird, ist IGF-2 bei Raumtemperatur 24 Stunden und bei +4 °C bis zu sieben Tage stabil.

Endokrines Pankreas

Insulin

Indikation: Insulinom

Wichtige Überlegungen vor der Probenentnahme: Blutentnahme während dokumentierter Hypoglykämie (Blutzucker < 3,3 mmol/l bzw. < 60 mg/dl). Glukose- und Insulinmessung müssen aus dem zum selben Zeitpunkt abgenommen Serum erfolgen. Optimal erfolgt die Blutprobengewinnung aus einem größeren Gefäß (z. B. Vena jugularis) mit einer großvolumigen Nadel (relativ große Blutmenge benötigt, Vermeidung von Hämolyse, zügige Blutentnahme möglich).

Messmethode: CLIA (Hund), ELISA (Katze)

Probenmaterial: Serum

Gut zu wissen: Insulin ist im Serum bei Raumtemperatur instabil und kann innerhalb weniger Stunden signifikant degradiert werden. Blut koagulieren lassen (nicht länger als 30 Minuten) dann sofort abzentrifugieren und abpipettieren, um einen Abbau möglichst zu verhindern. Kühl lagern (4 °C). Wenn die Analyse nicht innerhalb von 24 h erfolgt, einfrieren bei -20 °C (für längere Lagerung -80 °C). Gekühlter Versand (vorgefrorene Kühlakkus, bei längerer Transportdauer Trockeneis) muss sicher gestellt sein – die Probe muss gekühlt (4–8 °C) im Labor eintreffen. Da es bei Hämolyse zur Freisetzung Insulin-abbauender Enzyme kommen kann, sollte diese auf jeden Fall vermieden werden.

Jennifer von Luckner, Ruth Klein

Unsere Leistungen rund um die Endokrinologie

- Einzelhormonbestimmungen
- Funktionsstests
- spezielle Profile

Weiterführende Literatur

Aus der Humanmedizin: Nordin N, Ab Rahim SN, Wan Omar WFA, Zulkarnain S, Sinha S, Kumar S, Haque M. Preanalytical Errors in Clinical Laboratory Testing at a Glance: Source and Control Measures. *Cureus*. 2024 Mar 30;16(3):e57243.

Spezielle Literatur wird sehr gerne auf Nachfrage zur Verfügung gestellt.