

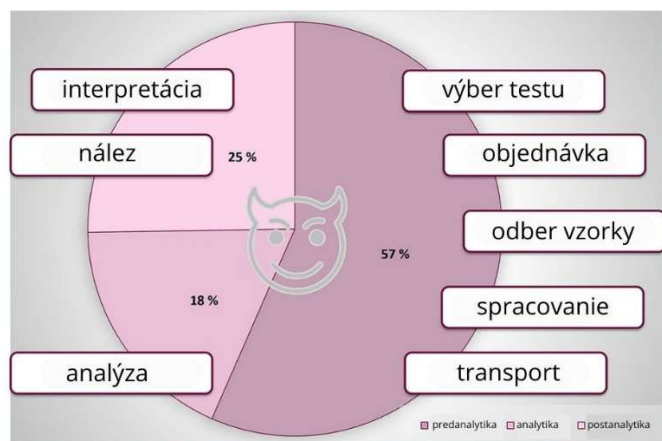
Predanalytika v endokrinológii u psa a mačky

Predanalytika? Čo to vlastne je a ako môže ovplyvniť moje vzorky?

Predanalytické procesy zahŕňajú všetky oblasti pred samotnou analýzou materiálu vzorky. Patria sem: určenie indikácie pre príslušnú analýzu, ktorá vyplýva z anamnézy a klinického vyšetrenia pacienta, príprava pacienta, výber správnej vzorky a nádob na vzorky, odber a prípravu vzorky, transport vzorky, skladovanie a spracovanie vzorky – skrátka: celý proces so vzorkou až po bod analýzy.

Rôzne štúdie sa zaoberali témou zdrojov chýb pri laboratórnych vyšetreniach.

Z nich vyplýva, aké mimoriadne dôležité je „predtým“. Počnúc správnym výberom testu, cez odber vzoriek, až po podmienky prepravy máme v predanalytike mnoho vplyvných faktorov (obr. 1). Najmä v endokrinológii sú požiadavky na vzorku vysoké vzhľadom na často nepredvídateľné vlastnosti hormónov, pokiaľ ide o ich stabilitu a vplyv kvality vzorky na meranie.



Obr.1: Najväčšie zdroje chýb pri vyšetrovaní laboratórnych vzoriek sú v predanalytike (podľa Nordin et al. 2024)

Zdroj obrázka: Laboklin

Nasledujúce informácie týkajúce sa materiálu vzorky sa vzťahujú na aktuálne používané metódy merania rôznych analytov v spoločnosti Laboklin. Vzhľadom na prebiehajúci vývoj sa požiadavky môžu časom meniť. V prípade pochybností sa

odporúča pred odberom vzorky zatelefonovať do laboratória.

V zásade platí: Je potrebné zabrániť silnej hemolýze alebo lipémii krvných vzoriek. Častými príčinami hemolýzy vzoriek sú: dlhší čas používania škrtidla, komplikované odbery, zrážanie séra v chladničke namiesto pri izbovej teplote a najmä neprepipetovanie séra/plazmy pred odoslaním. Mnohé hormonálne testy boli validované na krvi odobratej nalačno. Preto sa pre meranie hormónov všeobecne odporúča odber krvi nalačno. Tým sa zároveň znižuje výskyt lipemických vzoriek.

Štítna žľaza

T4 (celkový – TT4, voľný – fT4) a T3

Indikácie: Skrining hypotyreózy, skrining a diagnostika hypertyreózy

Dôležité informácie pred odberom vzorky:

Koncentrácie T4 môžu byť znížené v dôsledku ochorení nesúvisiacich so štítnou žľazou (non-thyroidal illness, NTI) a rôznych liekov. Voľný T4 je týmito faktormi ovplyvnený o niečo menej, jeho koncentrácia však môže byť takisto znížená v dôsledku NTI a liekov. Rozlíšenie od skutočnej hypotyreózy si vyžaduje ďalšie diagnostické vyšetrenia.

Metódy merania: Stanovenie je možné pomocou dvoch rôznych metód.

1. CLIA (chemiluminiscenčná imuno esej) – test je založený na imunologickej väzbe molekuly T4. Pre počiatočné skriningové vyšetrenie je táto (cenovo výhodnejšia) metóda často postačujúca. LC-MS/MS (kvapalinová chromatografia – tandemová hmotnostná spektrometria). Táto metóda sa čoraz viac presadzuje ako zlatý štandard. Považuje sa za mimoriadne presnú, keďže sa meria výlučne molekula T4, a tým nedochádza k interferenciám spôsobeným metabolitmi alebo protilátkami. Meranie metódou

LC-MS/MS je v spoločnosti Laboklin k dispozícii pre T4, T3 a rT3 (pozri dolu).

Vzorka: sérum (LC-MS/MS povinné, CLIA odporúčané)

Dobré vedieť: TT4 a fT4 zostávajú stabilné pri izbovej teplote tri až päť dní. V prípade fT4 môže po > 5 dňoch a/alebo pri vysokých teplotách okolia (2 dni) dôjsť k disociácii T4 od viažucich proteínov, čo vedie k falošne zvýšeným koncentráciám fT4. Podobný účinok môžu mať aj voľné mastné kyseliny. Hladina fT4 v krvnej vzorke sa potom zvýši, čo môže viesť k nesprávnej interpretácii výsledkov.

TSH

Indikácie: Vyšetrenie na hypotyreózu, kontrola liečby

Dôležité informácie pred odberom vzorky: Pri nízkej koncentrácii T4 a zodpovedajúcich klinických príznakov zvýšená hladina TSH zvyčajne potvrdzuje prítomnosť hypotyreózy. U približne 30 % psov s hypotyreózou sa však vyskytujú nízke koncentrácie TSH. V takomto prípade je potrebná ďalšia diagnostika na rozlíšenie NTI a hypotyreózy.

Metóda merania: CLIA

Vzorka: sérum

Dobré vedieť: TSH je stabilný pri izbovej teplote 24 hodín, v chladničke (2 – 8 °C) sedem dní.

Reverzný T3 (rT3)

Indikácie: Pomoc pri diferenciálnej diagnostike NTI a hypotyreózy u psov pri zníženej koncentrácii T4 bez zvýšenia TSH; pomoc pri podozrení na hypertyreózu u mačiek, ak T4 nie je zvýšený tak, ako by sa dalo očakávať

Dôležité informácie pred odberom vzorky: rT3 je veľmi sľubný parameter. Jeho interpretácia sa však musí uskutočniť v klinickom kontexte a v kombinácii s ďalšími parametrami štítnej žľazy.

Metóda merania: LC-MS/MS

Vzorka: sérum

Dobré vedieť: rT3 je pri izbovej teplote stabilný 14 dní.

Autoprotilátky (proti tyreoglobulínu, T3, T4)

Indikácie: Podozrenie na interferenciu s meraním T4-CLIA, uchovnenie

Dôležité informácie pred odberom vzorky:

Imunosupresia (lieky) a imunostimulácia (napr. očkovanie) môžu viesť k zmeneným koncentráciám protilátok, čo by sa malo zohľadniť pri interpretácii výsledkov.

Metóda merania: ELISA. Uvádza sa kvantitatívny (percentuálny podiel vo vzorke) alebo kvalitatívny (pozitívny/negatívny) výsledok.

Vzorka: sérum

Dobré vedieť: Protilátky sú relatívne stabilné. Pri dobe prepravy > 48 hodín by sa však vzorka mala prepravovať v chladničke. Pre stanovenie protilátok je obzvlášť dôležitá kvalita vzorky (separované sérum musí byť priehľadné, bez hemolýzy, bez lipémie).

Prištítna žľaza (paratyroidea)

Parathormón (PTH)

Indikácie: Vyšetrenie hyper- alebo hypoparatyreózy

Dôležité informácie pred odberom vzorky: Keďže pre interpretáciu výsledkov je rozhodujúca korelácia s koncentráciou vápnika v krvi v čase odberu krvi na PTH, stanovenie PTH a vápnika by sa malo vykonávať z tej istej vzorky séra, resp. zo séra, ktoré bolo odobraté v rovnakom čase.

Vzorka: sérum

Metóda merania: CLIA

Dobré vedieť: PTH je nestabilný. Preto má veľký význam správna predanalytická manipulácia. Vzorku nechať zrážať (nie dlhšie ako 30 minút), potom ju ihneď scentrifugovať a odpipetovať. Oddelené sérum sa musí skladovať a prepravovať v hlbokom mraze. Preprava sa musí uskutočniť minimálne s vopred zmrazenými chladiacimi vložkami, optimálne so suchým ľadom.

Nadobličky

Kortizol

Indikácie: Skriningový parameter na vylúčenie hypoadrenokorticismu, meranie v rámci ACTH stimulačného testu a dexametazón supresného testu

Dôležité informácie pred odberom vzorky: Pri strese (emocionálnom aj fyzickom) dochádza k zvýšenému uvoľňovaniu kortizolu. To má vplyv na funkčné testy. Najmä dexametazón supresný

test by sa mal vykonávať po vyriešení sprievodných ochorení a v čo najmenej stresovej situácii.

Metóda merania: CLIA, v špeciálnych prípadoch je možné použiť LC-MS/MS. V rutinej diagnostike sa kortizol stanovuje pomocou imunologických metód merania (CLIA). V humánnej medicíne sa aj pri kortizole čoraz viac presadzuje meranie pomocou LC-MS/MS ako vysoko špecifickej a presnej metódy merania.

Vzorka: Stanovenie je možné z plazmy. V záujme štandardizácie merania hormónov sa však uprednostňuje sérum. Predovšetkým pri sledovaní priebehu ochorenia a funkčných testoch by sa však mala vždy používať rovnaká vzorka.

Dobré vedieť: Kortizol je vo vzorkách séra v zásade stabilný pri izbovej teplote po dobu 3 – 5 dní. Výrazná lipémia môže ovplyvniť meranie kortizolu pomocou imunologických metód. Aj keď nie je nevyhnutné, aby bol pacient na funkčný test nalačno, môže byť preto vhodné, aby zviera pred testovaním dostalo len menšiu dávku a/alebo nízkoenergetické krmivo.

Pomer kortizol/kreatinín v moči (UCCR)

Indikácia: Skrining na možný Cushingov syndróm

Dôležité informácie pred odberom vzorky: Vzorky moču na stanovenie UCCR sa v ideálnom prípade odoberajú ráno a v prostredí bez stresu, najmenej dva dni po návšteve u veterinára. Pred odoslaním vzorky je potrebné vylúčiť infekciu močových ciest (vyšetrenie moču vrátane vyšetrenia sedimentu).

Metóda merania: Pri stanovení kortizolu v moči došlo v prípade jedného z testov široko používaných vo veterinárnej medicíne (CLIA, Immulite 2000®, Siemens, Nemecko) v dôsledku zmien substrátu zo strany výrobcu k problémom so spoľahlivosťou výsledkov merania zo psieho moču. Tento problém nepostihuje test používaný v laboratóriu Laboklin.

Endogénny ACTH (eACTH)

Indikácie: Na ďalšiu diferenciáciu pri Cushingovom syndróme alebo hypoadrenokortizme (Addisonova choroba)

Metóda merania: CLIA

Vzorka: EDTA plazma

Dobré vedieť: Endogénny ACTH je vo vzorke nestabilný, najmä u psov. V krvi sa rýchlo rozkladá pôsobením endogénnych enzýmov, čo môže viesť k falošne nízkym výsledkom. Ak je eACTH zmrazený pri teplote -20 °C v oddelenej plazme, je stabilný dlhšiu dobu. Krv sa preto musí odobrať do vopred vychladených skúmaviek s EDTA (skúmavky je najlepšie pred odberom vychladiť v mrazničke pri teplote -20 °C) a ihneď scentrifugovať a odseparovať. Plazma sa prenesie do skúmavky bez aditív a odošle v hlboko zmrazenom stave. Vzorka by mala byť do laboratória doručená ideálne mrazená. Sklenené skúmavky na vzorky nie sú vhodné, pretože eACTH sa viaže na sklo, čo znižuje nameranú koncentráciu.

Aldosterón

Indikácia: Vyšetrenie hyperaldosteronizmu

Dôležité informácie pred odberom vzorky: Pacient by mal byť dostatočne hydratovaný, keďže systém renín-angiotenzín-aldosterón (RAAS) je ovplyvnený hypovolémiou/dehydratáciou. U pacientov s azotémiou nestačí na diagnostiku primárneho hyperaldosteronizmu samotné stanovenie aldosterónu, pretože jeho hladina môže stúpať aj pri ochoreniach obličiek. Čas kŕmenia môže mať podstatný vplyv na RAAS, preto sa výslovne odporúča odber krvi nalačno.

Vzorka: sérum

Metóda merania: LC-MS/MS. Táto metóda sa považuje za veľmi presnú a lepšiu ako imunologické metódy merania. V tejto súvislosti je dôležité vedieť, že pri analýze pomocou LC-MS/MS sa merajú nižšie koncentrácie aldosterónu ako pri iných metódach. Táto skutočnosť je zohľadnená v referenčných hodnotách Laboklinu pre LC-MS/MS.

Dobré vedieť: Vzorka by mala byť čo najčerstvejšia (nie staršia ako 48 hodín). Nechá sa zrážať najviac 30 minút, potom je potrebné ju ihneď scentrifugovať a odpipetovať. Oddelenú vzorku je potrebné čo najskôr ochladiť a do laboratória ju doručiť v chladenom stave.

RAAS status (počítanie aktivity renínu, aktivity ACE a pomeru AA2)

Indikácia: Objasnenie hyperaldosteronizmu u pacientov so súbežnou azotémiou

Dôležité informácie pred odberom vzorky: Pacient by mal byť dostatočne hydratovaný, pretože systém renín-angiotenzín-aldosterón (RAAS) je ovplyvnený hypovolémiou/dehydratáciou. Čas kŕmenia môže významne ovplyvniť aktivitu RAAS, preto sa výslovne odporúča odber krvi nalačno.

Vzorka: sérum

Metóda merania: Výpočet aktivity renínu po meraní aldosterónu, angiotenzínu I a angiotenzínu II pomocou LC-MS/MS. Metóda je validovaná pre mačky a psy.

Dobré vedieť: Angiotenzín I a II sú nestabilné a nesmú byť vystavené teplotám medzi 4 a 8 °C. Vzorka musí preto prísť do laboratória zmrazená. Nechajte koagulovať maximálne 30 minút, potom ihneď centrifugujte a prepipetujte. Sérum ihneď zmrazte pri teplote -20 °C. Vzorka sa nesmie skladovať v chladničke a po zmrazení sa nesmie rozmraziť, kým nepríde do laboratória. Posielajte na suchom ľade (!). Prosíme, kontaktujte nás vopred.

Katecholamíny (metanefrín, normetanefrín)

Indikácie: Vyšetrenie feochromocytómu / paragangliómu produkujúceho katecholamíny

Dôležité informácie pred odberom vzorky:

Katecholamíny sa uvoľňujú počas stresu. Stresové situácie preto môžu viesť k zvýšenému uvoľňovaniu.

Stanovenie v moči je menej ovplyvnené epizodickým uvoľňovaním katecholamínov ako v krvi. Moč sa môže získať cystocentézou alebo zachytením pri močení. Odber vzorky doma nie je povinný. Pred odberom by sa však mala vylúčiť infekcia močových ciest (analýza moču s vyšetrením sedimentu).

Lieky ako fenoxýbenzamín, metoklopramid, beta-blokátory, blokátory kalciových kanálov alebo sympatomimetiká (epinefrín, dopamín, dobutamín, fenylpropanolamín, terbutalín) môžu spôsobiť falošne zvýšené hodnoty. Je obzvlášť dôležité poznamenať, že odber vzorky sa musí vykonať pred začatím akejkoľvek potenciálnej liečby fenoxýbenzamínom.

Metóda merania: LC-MS/MS

Vzorka: EDTA plazma alebo moč (spontánna mikcia alebo cystocentéza)

Dobré vedieť: Nestabilné v krvi. Vzorka krvi sa musí ihneď centrifugovať a plazma sa musí oddeliť. Po prenose do nepotiahnutej skúmavky

skladovať v chladničke (4 °C, stabilný maximálne 3 dni) alebo zmraziť pri teplote -20 °C. Posielať chladené (do laboratória musí prísť chladený: predmrazené chladiace boxy alebo ideálne suchý ľad).

V moči stabilný niekoľko dní aj pri izbovej teplote. Okyslenie, ktoré sa predtým odporúčalo, už podľa štúdií z humánnej aj veterinárnej medicíny nie je potrebné.

Hypofýza

Inzulínový rastový faktor 1 (IGF-1)

Indikácie: akromegália (hypersomatotropizmus), nanizmus (hyposomatotropizmus)

Metóda merania: CLIA

Vzorka: sérum

Dobré vedieť: Vzorka sa nechá zrážať (najviac 30 minút), potom je potrebné ju scentrifugovať a sérum hneď odseparovať. Oddelené sérum by sa malo ihneď schladiť. Preprava sa vykonáva v chladenom stave. Ak sa krv rýchlo scentrifuguje a oddelí, IGF-2 je stabilný 24 hodín pri izbovej teplote a až sedem dní pri teplote +4 °C.

Endokrinný pankreas

Inzulín

Indikácia: inzulinom

Dôležité informácie pred odberom vzorky: Odber krvi počas zdokumentovanej hypoglykémie (hladina glukózy v krvi < 3,3 mmol/l resp. < 60 mg/dl).

Meranie glukózy a inzulínu sa musí vykonať zo séra odobratého v rovnakom časovom okamihu. Optimálny je odber krvnej vzorky z väčšej cievy (napr. z krčnej žily) pomocou ihly s veľkým prierezom (vyžaduje sa relatívne veľké množstvo krvi, zabráni sa hemolýze, je možný rýchly odber krvi).

Metóda merania: CLIA (pes), ELISA (mačka)

Vzorka: sérum

Dobré vedieť: Inzulín je v sére pri izbovej teplote nestabilný a môže sa v priebehu niekoľkých hodín výrazne rozložiť. Krv sa nechá zraziť (nie dlhšie ako 30 minút), potom je potrebné ju scentrifugovať a hneď prepipetovať, aby sa čo najviac zabránilo rozkladu. Skladovať v chlade (4 °C). Ak sa analýza neuskutoční do 24 hodín,

zmraziť pri -20 °C (pre dlhšie skladovanie pri -80 °C).

Je potrebné zabezpečiť chladenú prepravu (predmrazený chladiaci box, pri dlhšej dobe prepravy suchý ľad) – vzorka musí byť doručená do laboratória v chladenom stave (4 – 8 °C).

Keďže pri hemolýze môže dôjsť k uvoľneniu enzýmov rozkladajúcich inzulín, je potrebné sa jej v každom prípade vyhnúť.

Jennifer von Luckner, Ruth Klein

Dr. med. vet. Sandra Franke

Ďalšia literatúra

Z humánnej medicíny 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.

Špeciálnu literatúru poskytneme na vyžiadanie

Vyšetrenia súvisiace s témou

- stanovenia jednotlivých hormónov
- funkčné testy
- špeciálne profily