

Einfluss von Störfaktoren auf Messgrößen

Präanalytik II

Einleitung

Die Präanalytik umfasst alle Arbeitsschritte, welche *vor* der eigentlichen Laboranalyse liegen (Probenentnahme, Probentransport, Probenlagerung).

Das Probenmaterial unterliegt hierbei sowohl patientenbedingten (in-vivo) wie auch "handlingbedingten" (in-vitro) Einflüssen, welche das Ergebnis der Laboranalyse beeinträchtigen können.

Patientenbedingte Störfaktoren

Patientenbedingte Faktoren sind Alter, Erbfaktoren, Geschlecht, Art, Rasse, Trainingszustand, Trächtigkeit, Ernährung, Medikamente, Impfungen und Stress sowie erkrankungsbedingte Veränderungen, welche nicht beeinflusst werden können:

- Stark erhöhte Leukozytenzahl kann Hämoglobin falsch hoch erscheinen lassen
- Stark erhöhter Hämatokrit kann Gerinnungstest falsch tief erscheinen lassen (Citrat im Plasma zu hoch)
- Kälteagglutinine* lassen MCV und MCHC falsch hoch erscheinen (*IgM-Autoantikörper gegen Erythrozyten bewirken eine Verklumpung derselben bei niedrigen Temperaturen; bei Hund und Katze eher selten, z.B. Hämobartonellose)
- Bilirubin lässt viele photometrische Messungen falsch hoch oder falsch tief erscheinen
- Triglyceride bewirken eine Trübung, insbesondere werden UV-Messungen beeinträchtigt

Probentransport, Probenversand, Probenlagerung

Grundsätzlich ist eine Kühlung des Probenmaterials zu Lagerungs- oder Transportzwecken optimal, für bestimmte Analysezwecke kann sogar ein Tiefgefrieren oder ein Schutz vor Lichteinfluss notwendig sein.

Einige wichtige Punkte die es zu beachten gilt:

- **Eindeutige Identifikation**
- **Fester Verschluss der Probengefässe (Verdunstungseffekte)**
- **Serum/Plasma von Blutzellen trennen**
Zellen nehmen auch „in-vitro“ Glukose auf wodurch der Glukosespiegel im Serum/Plasma sinkt (ab 2-3 Std. nach Blutentnahme). Ebenso treten Inhaltsstoffe aus den Zellen aus was einen Anstieg derselben im Serum/Plasma bewirkt
- **Kühlung des Probenmaterials optimal**
- **Tiefgefrieren (-20°C) des Probenmaterials für bestimmte Analysen zwingend:**
EDTA-Plasma: ACTH, (Nor-) Adrenalin, Interleukine, Calcitonin, ADH, Renin, Angiotensin II, Vitamin D)
Serum: Aldosteron, Insulin, Parathormon, Serotonin, Vit.D, Biotin
- **Lichtschutz des Probenmaterials für bestimmte Analysen:**
EDTA-Plasma/-Blut, Serum: Vitamine, Bilirubin bei Lagerung über 8 Std. (Lichtexposition der Probe bewirkt erniedrigte Werte bis ca. 30%)

In-vitro Störfaktoren: Hämolyse, Lipämie, Ikterus

Unter „in-vitro“-Störfaktoren verstehen wir unzweckmässige Röhrchenadditive (siehe Newsletter „Präanalytik- Hämatologie und klinische Chemie“) sowie Hämolyse, Lipämie, Ikterus, Lichtexposition, Temperatur und Zeit.

Hämolyse



Abb. 1, Labor Zentral
Serum links klar, Serum rechts hämolytisch

Bei einer Hämolyse kommt es durch die Zerstörung der Zellmembran von Erythrozyten und anderen Blutzellen zum Austritt ihrer Inhaltsstoffe. Hämoglobine zum Beispiel färben Serum oder Plasma rötlich, für uns sichtbar ab einer extrazellulären Hämoglobin-Konzentration von $> 300\text{mg/l}$ (18.8mmol/l).

Eine Hämolyse wirkt generell störend auf die Konzentration verschiedener Parameter im Serum oder Plasma, auf photometrische Messungen (Farbe) sowie auf chemische Reaktionen.

Hämolyse tritt in geringem Masse physiologisch auf bei der Zell-Erneuerung. Übersteigt die Zell-Lyse die Zell-Neubildung kommt es zur Anämie. Auslöser für eine Zerstörung der Erythrozyten „in-vivo“ können sein:

- Infektionen (Babesien, Anaplasmen, Hämobartonellen, Streptokokken, Clostridien, Leptospiren)
- Auto-Immunhämolyse
- Vergiftungen (Kupfer, Blei, Zwiebeln, Knoblauch,...)
- Isoimmunreaktion bei Neugeborenen
- Transfusionsunverträglichkeit

Eine „in-vitro“ Hämolyse ist oft ein Zeichen für eine suboptimale Blutentnahme und als Artefakt zu werten! Gründe hierfür sind vielfältig:

- zu starke Stauung, zu enge Kanülen
- Aspiration v. Gewebsflüssigkeit (Durchstechen d. Vene)
- Übertragen von Blut aus Spritzen in andere Gefässe
- Schütteln einer Probe
- verzögerte Abtrennung d. Zellen von Serum/Plasma
- zu lange/starke Zentrifugation
- Hitze, Kälte (Einfrieren) während Transport/Lagerung
- Rückstände von Detergenzien in Röhrchen

Wichtig ist die Unterscheidung zwischen *in-vitro* und *in-vivo* Hämolyse für eine korrekte Interpretation der Laborresultate.

Freies Hämoglobin wird *in-vivo* rasch durch *Haptoglobin* gebunden und aus dem Kreislauf eliminiert. Durch Messung des Haptoglobins (Konzentrationsverminderung) kann eine Aussage über eine abgelaufene Hämolyse gemacht werden (Ausnahme: Neugeborene). Ebenso ist ein Anstieg des indirekten Bilirubins und der Retikulozyten Ausdruck einer abgelaufenen Hämolyse mit reaktiver Neubildung der Erythrozyten.

Bei einer Hämolyse *in-vitro* hingegen bleibt die Konzentration des Haptoglobins unverändert, während Bestandteile der Erythrozyten wie freies Hämoglobin, Kalium, Laktatdehydrogenase (Marker für Zelluntergang), Aspartataminotransferase, saure Phosphatase, Kreatinkinase und Alaninaminotransferase parallel erhöht sind. Erniedrigte Werte können bei Bilirubin, alkalischer Phosphatase, Albumin und Gammaglutamyltransferase gefunden werden.

Lipämie

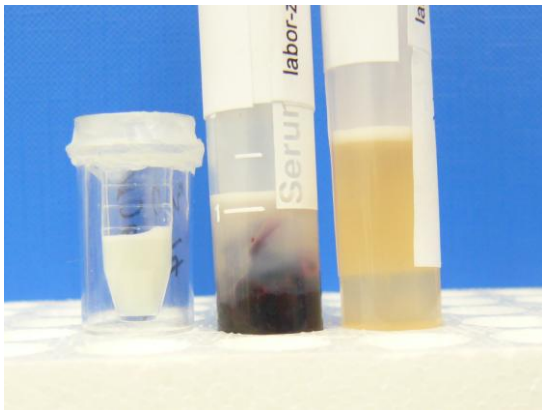


Abb. 2, Labor Zentral
Lipämie in Serum, Vollblut, Plasma

Alle Fette und fettähnlichen Substanzen gehören zur Gruppe der Lipide. Diese sind meist wasserunlöslich und werden deshalb für den Transport über die Blutbahn von Lipoproteinen umhüllt. In dieser Transportform (auch als „Chylomikronen“ bezeichnet) gelangen die Lipide vom Darm über die Lymphe ins Blut.

Erst bei hoher Trübung (>1000mg Lipide pro Liter Blut) ist eine Lipämie für uns im Vollblut von Auge gut erkennbar.

Mögliche Ursachen für eine Lipämie sind Fütterung vor Blutentnahme und verschiedene Metabolismusstörungen wie exokrine Pankreasinsuffizienz, Diabetes mellitus, Hypothyreose, Cholestase, Kortisolüberschuss oder idiopathisch bei Zwergschnauzern.

Eine starke Lipämie wirkt generell störend auf photometrische Messungen, Blutzellzählungen, immunologische Bestimmungen und Elektrolytbestimmungen:

- **photometrischen Messungen**
Beeinflussung der Lichtstreuung und Absorption
- **Blutzellzählgeräte:**
Hb und MCHC zu hoch, Hkt zu niedrig
- **immunologische Bestimmungen:** unplausible Ergebnisse bei Immunoassays zur Bestimmung von Hormonen, Tumormarkern, Plasmaproteinen, Antikörpern, C-reaktivem Protein, etc. Lipoproteine können lipophile Bestandteile aufnehmen, welche so nicht mehr für die Analyse zugänglich sind.
- **Elektrolytbestimmungen:** Elektrolyte sind vermindert über einen Verdrängungseffekt durch die Lipoproteinpartikel. Kalium z.B. ist vermindert oder unverändert je nachdem welche Messmethode vom Labor verwendet wird.

Ikterie

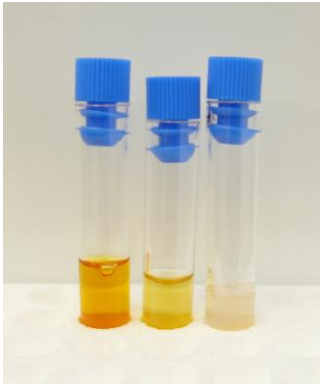


Abb. 3, Labor Zentral: Serum links stark ikterisch, rechts klar

Ikterisches Serum oder Plasma ist intensiv strohgelb durch Hyperbilirubinämie. Bilirubin existiert im Plasma in freier Form, gebunden an Albumin oder wasserlöslich (glukoronidiert). Klinisch sichtbarer Ikterus tritt auf ab einer Bilirubin-Konzentration von $>3\text{mgBilirubin/dl}$ Blut. Bilirubin interferiert vor allem bei photometrischen Messungen.

Ikterisches Probenmaterial wird gefunden bei Leberschäden, Gallengangsobstruktionen und generell bei Zerstörung von Erythrozyten (mit gleichzeitigem Anstieg von Hämoglobin als weiterem Störfaktor).

Erhöhte Bilirubinwerte können störend wirken auf photometrische Messungen. Dies äussert sich in erhöhten Messwerten bei Bilirubin und je nach Intensität der Hyperbilirubinämie in veränderten Werten bei Kreatinin, Cholesterin oder Harnsäure.

Auswahl einiger Laborparameter und deren mögliche Veränderungen

Analyt	Hämolyse	Lipämie	Ikterie
Totalprotein	↑	↑	
Albumin	↑/↓	↑	
Glukose	↑/↓	↑	↓
Kreatinin	↓		↓
alpha-Amylase	↑	↓	
Lipase		↓	
ALT/GPT	↑	↑/↓	
AST/GOT	↑	↑	
Alk.Phosphatase	↓	↑/↓	↑
GGT	↓/↑	↑	
LDH	↑		
Bilirubin gesamt	↓/↑	↑	↑
Kreatinkinase	↑		↑
Kalzium	↑	↑	↓
Kalium	↑	(↓)	↑
Magnesium	↑		↓
Natrium		↓	
Chlorid	↑	↓	↑
Phosphor	↑	↑/↓	↑
Hämoglobin	↑	↑	
Gerinnungsfaktoren	↓	↑	

Art und Umfang der Veränderungen der Laborparameter hängen im Wesentlichen vom Ausmass des störenden Einflusses und der vom Labor verwendeten Analysenmethode ab.

Sichtbare Trübungen oder starke farbliche Veränderungen bei eingesandtem Probenmaterial werden dokumentiert und dem Einsender mitgeteilt.

Je nach Fragestellung und Plausibilität der Ergebnisse in Kombination mit Anamnese und klinischen Befunden ist eine erneute Blutentnahme notwendig.

Probenstabilität

Proben können vor oder nach der Analyse unterschiedlich lange aufbewahrt werden.
Wichtige Faktoren sind hierbei:

- **Qualität und Quantität des Ausgangsmaterials**
- **Röhrchenadditive**
- **Lager (Temperatur, Feuchtigkeit, Lichtschutz, Dauer)**
- **Verwendungszweck**

Einige in der Praxis gebräuchliche Beispiele sind in untenstehender Tabelle aufgeführt.

Analyt	Biologische Halbwertszeit	Stabilität in Blut bei Raumtemperatur	Stabilität in Serum oder Plasma			Geeignetes Medium/ Stabilisator
			-20°C	4-8°C	20-25°C	
Fruktosamin	12 Tage	12 Stunden	2 Monate	2 Wochen	3 Tage	Serum, Heparin-Plasma EDTA-Plasma
Glukose	Minuten	10 Minuten	1 Tag	7 Tage	2 Tage	Vollblut innert 1 Std. zentrifugieren →Serum oder Na-Fluorid- röhrchen
ACTH	Minuten	instabil	6 Wochen	3 Stunden	1 Stunde	Optimal: EDTA-Blut innerhalb 1 Std. zentrifugieren, Plasma tiefgefrieren
Cortisol	1 Stunde	7 Tage	3 Monate	7 Tage	7 Tage	Serum, Heparin- Plasma EDTA-Plasma

Quelle: „Use of Antikoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations“, WHO, 2002

Literatur

- Klinische Chemie und Hämatologie, Klaus Dörner, 5.Auflage 2003, Thieme Verlag
- Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, Kraft/Dürr, 5. Auflage, Schattauer Verlag
- H. Lutz, R. Hofmann, B. Riond, Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, Vorlesungsskript für die Studierenden der Vetsuisse-Fakultäten.
- Use of Antikoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations, WHO/DIL/LAB/99.1/Rev.2., 2002
- Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry, Sonntag O., Clin.Chem.Clin. Biochem, 1986; 24: 127-39
- Labordiagnostik in der Kleintierpraxis, Von Michael D. Willard, Harold Tvedten, 2005, Elsevier