

Laborbestimmungen in der Thyreologie

Wiener Schilddrüsendonnerstage

8.5.2014

Markus Exner, Gruppenpraxis Labors.at, 1020 Wien



Analyseplattformen

Labors.at verwendet derzeit für die Schilddrüsenparameter TSH, fT3, fT4, TG, anti-TPO, anti-TG und TRAK

Modular Analytics Systeme (E-Module) von **Roche**.

Calcitonin wird auf Liaison XL Systemen von **Diasorin** bestimmt.

Für die vorliegende Zusammenstellung wurden zusätzlich von **Abbott**, **Beckman-Coulter** und **Siemens** die Unterlagen der jeweiligen Analyseplattformen zur Verfügung gestellt.

Die Abbildungen sind aus frei zugänglichen Internet- und Youtube-Dokumenten zusammengestellt.

Hintergrund und Herausforderung:

- Konsolidierung: Laboratorien werden sowohl im Spitals- als auch im niedergelassenen Bereich zusammengeführt
 - Steigende Probenzahlen, gleichbleibende Anforderung an die turn-around-Zeiten (TAT)
 - Kostendruck von Seiten der Krankenkassen
 - Ökonomischer Druck auf die diagnostische Industrie (Kosten für Plattform-Entwicklung, Zertifizierung (Akkreditierungsnormen), Zulassung neuer Verfahren)
- ➔ Nur wenige Anbieter, die in die technische und wissenschaftliche Weiterentwicklung investieren

Bestimmungsdauer am Beispiel fT4

Gleichgewichtsdialyse: 17-24 h, dann Bestimmung

Ultrafiltration: 30 - 40 min, dann LC-MS/MS

Immunoassays: 18 - 25 min (herstellerabhängig)

Taktung (10-20 sec) und Zahl der Analysatormesszellen

➔ Große Probandenzahlen nur automatisiert abzuarbeiten

Bestimmungsprinzipien

Immunoassays sind Liganden-Bindungsassays, bei denen als Bindeprotein Antikörper eingesetzt werden.

Testprinzipien:

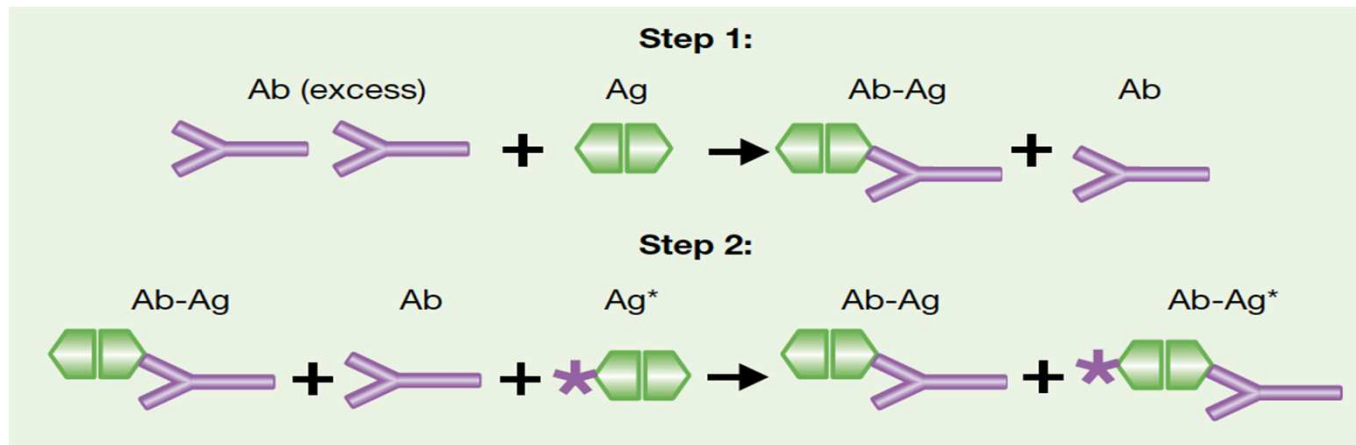
kompetitive und nicht-kompetitive Assays

homogene und heterogene Assays

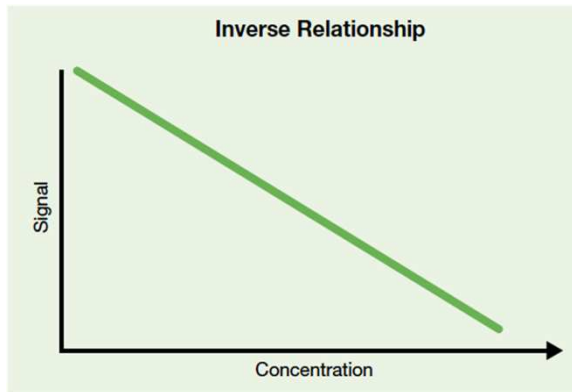
Kompetitive Immunoassays



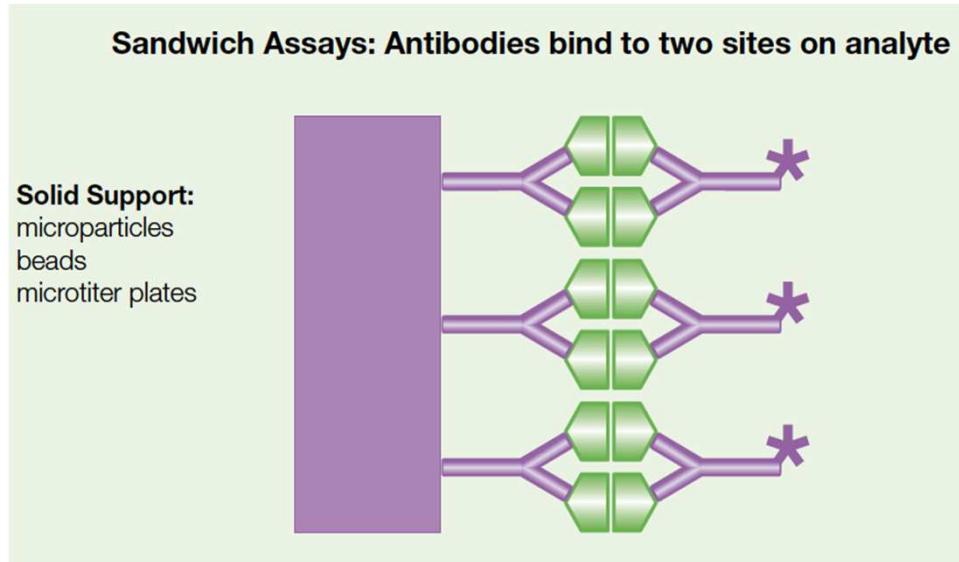
Ein-Schritt



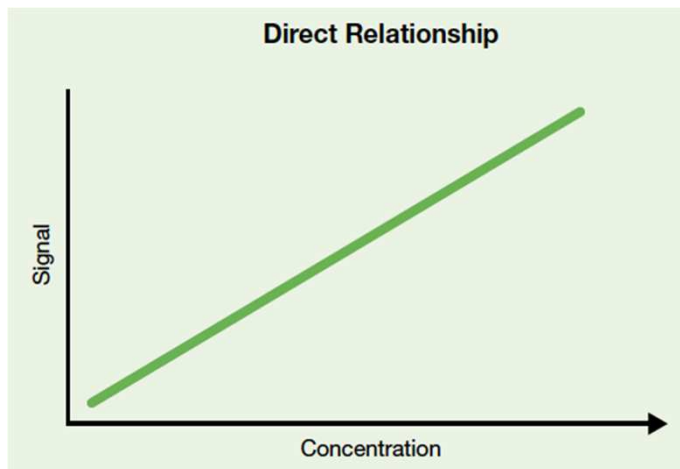
Zwei-Schritt



Nicht-Kompetitive Immunoassays (immunometrische, auch „Sandwich“- Assays)



Ein-Schritt oder
Zwei-Schritt Verfahren



Testprinzipien

Enzym Immunoassay (EIA)

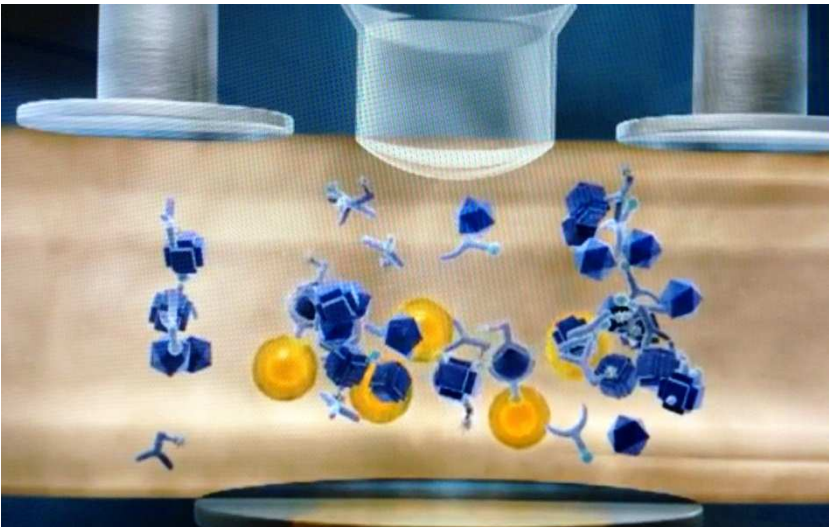
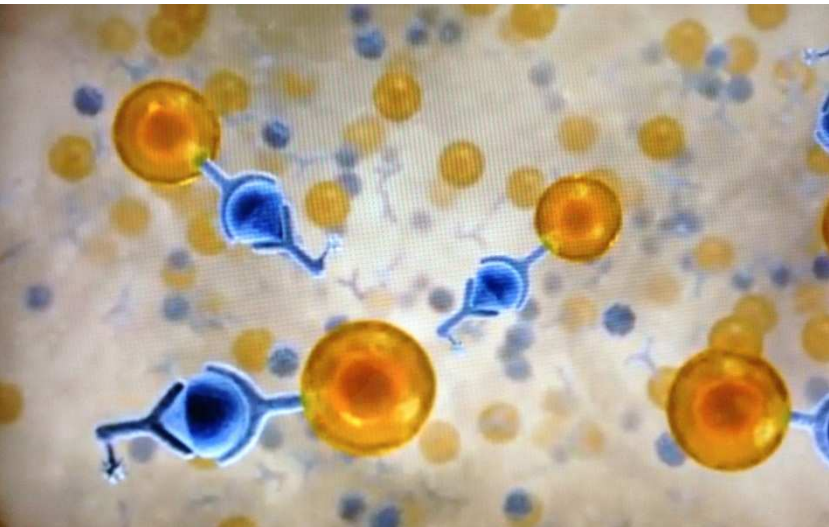
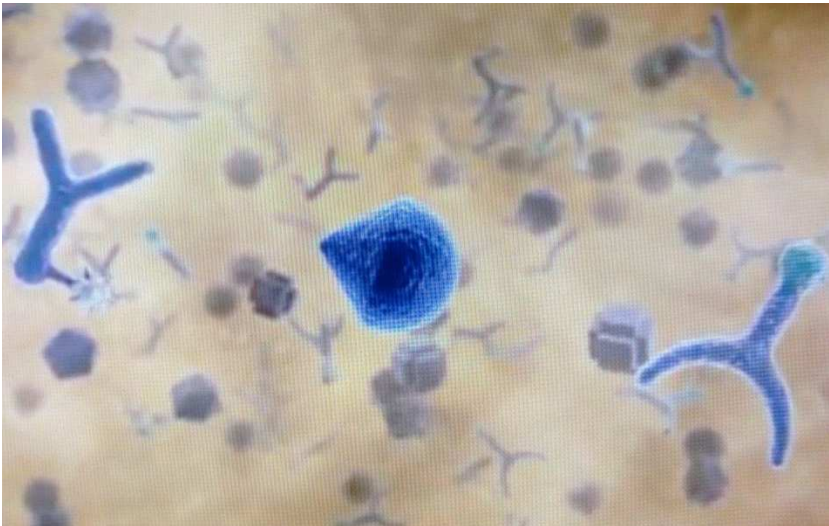
Fluoreszenz Immunoassay (FIA)

Mikropartikel Enzym Immunoassay (MEIA)

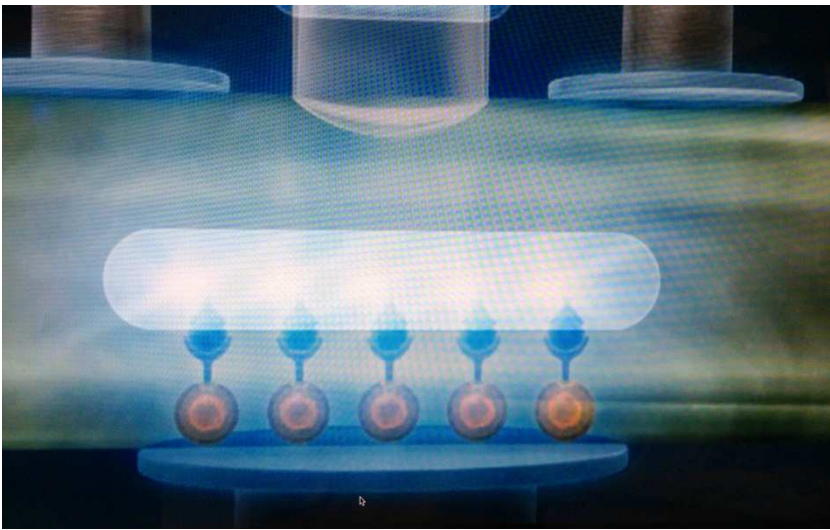
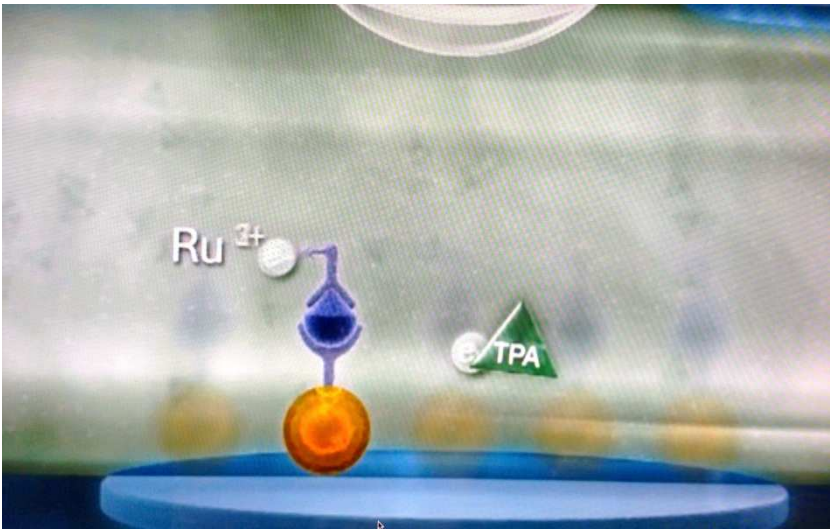
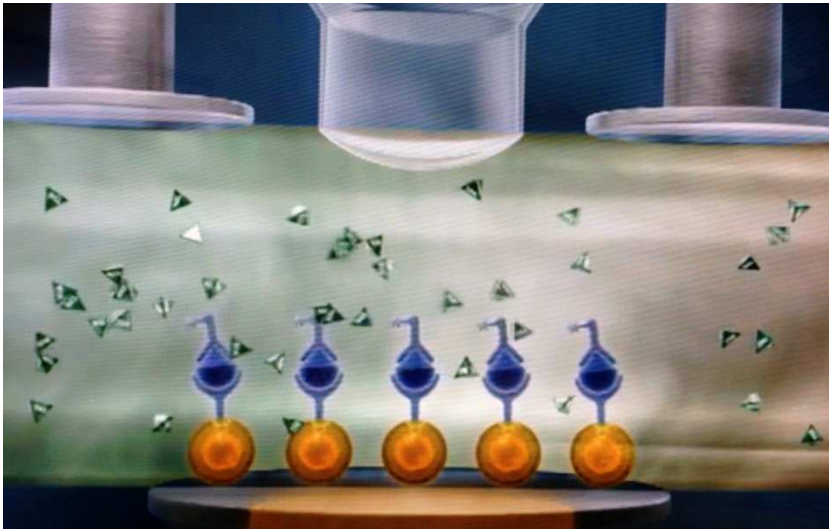
Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassay (CMIA;CLIA)

Elektrochemiluminiszenz-Immunoassay (ECLIA)

ECLIA 1



ECLIA 2



Pitfalls in der Diagnostik

Einflussfaktoren:

Zirkadiane Rhythmik

Alter

Schwangerschaft

Veränderung der Hormonbindung an Serumproteine (FDH,
genetische Varianten TBG, Präalbumin, erhöhte Clearance)

Pitfalls in der Diagnostik

Einflussfaktoren:

Biologische Variabilität (atypische Glykosilierung bei Thyreotropinomen, biologisch inaktive Isoformen durch verminderte Sialysierung bei zentraler Hypothyreose)

Non-Thyroidal-Illness, Lebererkrankungen, Nierenerkrankungen

Medikamente (z.B. Lithium, Glukokortikoide, Östrogene, Opiate...)

Schilddrüsenhormonresistenz

Pitfalls in der Diagnostik- Interferenzen

Präanalytisch:

Abnahmematerial (Heparinplasma, EDTA, Gelseparatoren, frisches Serum-
Komplementfaktoren binden an Fc-Fragmente)

Freie Fettsäuren (Heparin aktiviert Lipoproteinlipase, erhöhte FFA, Freisetzung
von T4 aus der Bindung an Albumin, auch bei Lagerung)

Matrixeffekte

Verdünnungspuffer (pH-Wert, Ionenstärke)

Temperatur (freie Hormone)

Pitfalls in der Diagnostik – Interferenzen

Analytisch:

Autoantikörper

Heterophile Antikörper (niedrigtitrig bei bis zu 40% der Proben, vorwiegend antiboviner Spezifität)

Rheumafaktoren

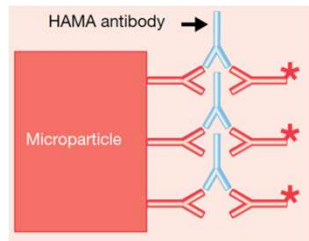
Kreuzreaktivität (z.B. Trijodessigsäure, Metabolit von T3 → fT3 falsch↑)

Antikörper gegen Ruthenium, Streptavidin; hohe Biotindosen

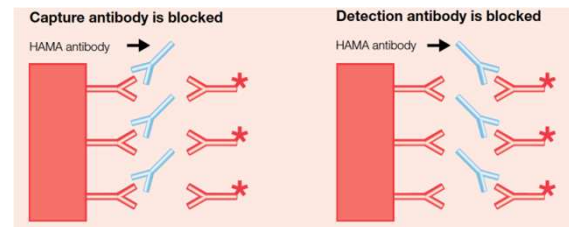
Pitfalls in der Diagnostik – Interferenzen

Analytisch:

Humane anti-Maus –Antikörper (HAMA)

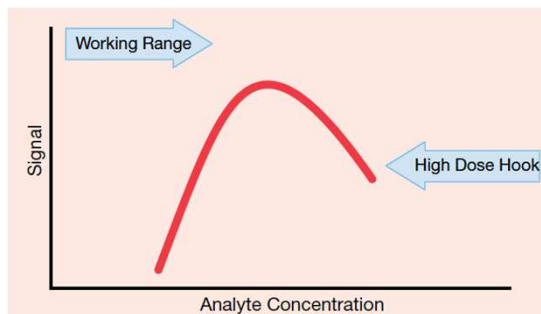


falsch positiv



falsch negativ

High dose hook effect



vorwiegend bei Ein-Schritt immunometrischen Assays

Pitfalls in der Diagnostik

Analyt-spezifische Einflussfaktoren

TSH	zirkadiane Rhythmik Abnahmematerial, Isoformen, Auto-AK
fT3/fT4	Schwangerschaft, Bindungsprotein-Anomalien Auto-AK, Medikamente, Heparin
Thyreoglobulin	high dose hook –Effekt, Auto-AK (meist anti-TG, aber auch anti-TPO, selten T3/T4 AK), atypische TG-Formen

➔ beeinflussen auch die Wiederfindungstests

Pitfalls in der Diagnostik

Analyt-spezifische Einflussfaktoren

Autoantikörper (anti-TG, anti-TPO, TRAK)

Assays wegen der unterschiedlichen Antigene und Heterogenität der zirkulierenden AK nicht vergleichbar (z.B. TG Antigen: Glykosylierung, Jodierung, Sulfatierung, Polymere, Fragmente)

TRAK Test ist kein Bioassay (Stimulierung, Hemmung)

Calcitonin

Kreuzreaktion Procalcitonin und Fragmente
geringe Stabilität

Harmonisierung und Standardisierung der Immunoassays (IFCC Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests)

Kalibration

multiple Antigenformen (Glykosylierung bei verschiedenen Erkrankungen verändert)

Unterschiedliche Antikörper in den Kits, die verschiedene Epitope des Antigens erkennen

Rundversuchsmaterialien

Es ist entscheidend, dass die endokrinologisch tätigen Kollegen über die Bestimmungsmethoden des Labors und die damit zusammenhängenden Pitfalls informiert sind.

Bei Diskrepanzen zum klinischen Bild des Patienten ist eine direkte Kommunikation mit dem Labormediziner und eine allfällige alternative Bestimmungsmethode anzuraten.

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



Univ. Doz. Dr. Markus Exner
Gruppenpraxis Labors.at
Praterstraße 22, 1020 Wien
m.exner@labors.at

