



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



VETUNI pro 21. století: Rozvoj VETUNI v oblasti digitalizace činností, profesionálního vzdělávání a flexibilních forem vzdělávání

Projekt NPO registrační číslo NPO_VETUNI_MSMT-16594/2022

Specifický cíl A3: Tvorba nových profesně zaměřených studijních programů

Studijní program:

Veterinární asistence

Návaznost na výstup:

☐ č. 1 ☐ č. 2 ☐ č. 3 ☒ č. 5 ☐ č. 6 ☐ č. 7 ☐ č. 8 ☐ č. 10

Předmět: (zkratka a název dle studijního plánu)

Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků V2LAB

Typ výstupu: (konkretizovat, např. přednáška, návod na praktické cvičení aj.)

Studijní opory pro teoretickou výuku

Autor výstupu:

MVDr. Řeháková Kristína, Ph.D.



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků

MVDr. Kristína Řeháková, Ph.D.

Klinická laboratoř pro malá zvířata

VETUNI Brno

rehakovak@vfu.cz



Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků



Moodle kurz Sylabus

Podmínky zápočtu:
100% účast na cvičeních
2 průběžné testy

Zkouška:
písemný test

Týden	Téma	Vyučující
1 (14.2.)	Klasifikace laboratorních metod	Dr. Řeháková
1+2 (14.2., 21.2.)	Příprava pacienta, odběrové materiály, žádanky o lab. vyšetření	Dr. Váňová
3 (28.2.)	Odběry biologického materiálu za účelem laboratorního vyšetření	Dr. Váňová
3+4 (28.2., 7.3.)	Zpracování krve za účelem hematologického vyšetření (krevní obraz, krevní nátěr)	Dr. Řeháková
5 (14.3.)	Fáze a hlavní chyby lab. vyšetření	Dr. Váňová
5+6 (14.3., 21.3.)	Zpracování krve za účelem biochemického vyšetření krve, analýza makroskopicky abnormálních vzorků plazmy/séra	Dr. Řeháková/ Dr. Váňová
7 (28.3.)	Hematologický profil	Dr. Řeháková
7+8 (28.3., 4.4.)	Zpracování a laboratorní vyšetření moči	Dr. Váňová
9 (11.4.)	Biochemický profil	Dr. Váňová
9+10 (11.4., 18.4.)	Zpracování a laboratorní vyšetření efuzí	Dr. Řeháková
11 (25.4.)	Analýza moči a efuzí	Dr. Řeháková
11+12 (25.4., 2.5.)	Zpracování a laboratorní vyšetření bacherové tekutiny/mléka	Dr. Kadek
13 (9.5.)	Laboratorní analýza bacherové tekutiny, bronchoalveolární laváže a mléka	Dr. Kadek
13+14 (9.5., 16.5.)	Zápočtové řízení	Dr. Řeháková/ Dr. Váňová



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků



Přednášející & Cvičící:

Dr. Řeháková - ÚF, KLMZ

Dr. Váňová - ÚF, KLMZ

Dr. Kadek (11.-13.týden) - KCHP



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Dle účelu/principu:

Hematologické

Biochemické

Imunologické

Morfologické

Mikrobiologické

Molekulárně - biologické

...

Dle účelu/principu:

Hematologické

Impedance: CBC

**Fluorescenční průtoková cytometrie:
(CBC), DIFF, RET**

Spektrofotometrie: hemoglobin

Optická/mechanická koagulometrie: APTT, PT

Turbidimetrie: FBG

KLASIFIKACE LABORATORNÍCH METOD



Dle účelu/principu:

Hematologické

spektrofotometrie

mechanická/optická koagulometrie

impedance

fluorescenční průtková cytometrie výpočet

Parametr	Výsledek	RR	Jednotky
WBC	25,3	6 – 17	$\times 10^9/l$
PLT	227	180 – 500	$\times 10^9/l$
RBC	3,1	5,2 – 7,9	$\times 10^{12}/l$
Hb	77	124 – 192	g/l
Ht	0,25	0,35 – 0,52	l/l
Ret	280	< 80	$\times 10^9/l$
WBC Diff	↑Neu & ↑Mo		
APTT	17,9	12 – 18	s

Dle účelu/principu:

Biochemické

Spektrofotometrie: rutinní BCH parametry

Potenciometrie: elektrolyty, pH & krevní plyny

Elektroforéza: proteiny

Luminometrie: hormony

ELISA: specifické analyty

SNAP: specifické analyty

Dle účelu/principu:

Imunologické

Aglutinace: krevní skupiny, Coombsův test

IFA: serologie (IgM, IgG)

ELISA: specifické analyty, serologie

SNAP test: specifické analyty

Dle účelu/principu:

Morfologické

Cytologie, cytochemie, imunocytochemie

Histologie, histochemie, imunohistochemie



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

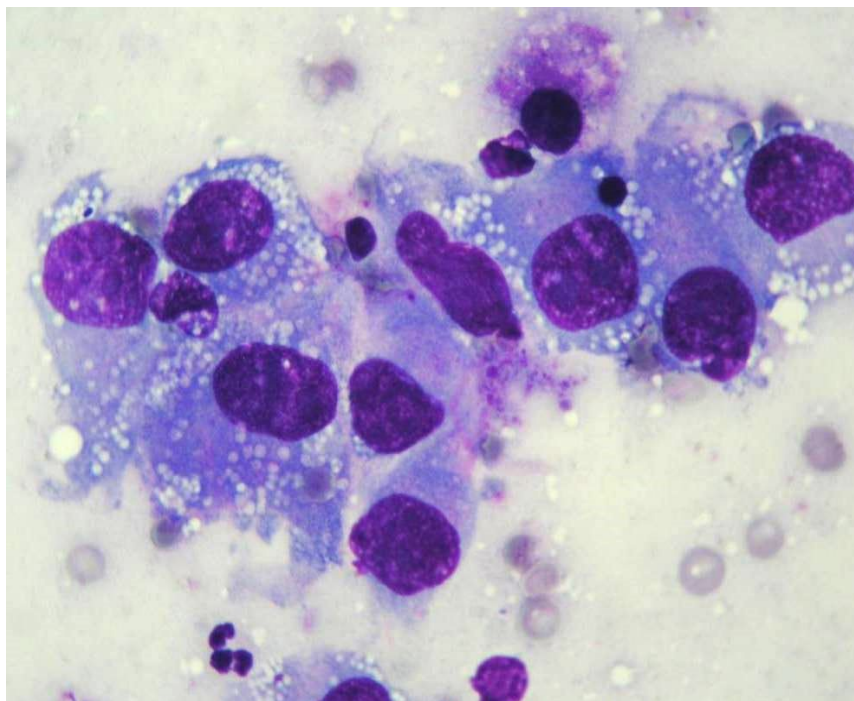
MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Dle dostupnosti:

1. **Základní („in house“)**
2. **Specializovaná**
3. **Vysoce specializovaná**



Dle dostupnosti:

1. **Základní**
2. **Specializovaná (laboratoř, druhová specificita!!!)**
3. **Vysoce specializovaná**

Dle dostupnosti:

1. **Základní**
2. **Specializovaná**
3. **Vysoce specializovaná (referenční laboratoř)**

Přístrojové vybavení:

1. **Žádné**
2. **Jednoduché zařízení**
3. **POCT (point of care testing) analyzátor**
4. **Analyzátor stolní**
5. **Analyzátor samostatně stojící**
6. **Linka**

Přístrojové vybavení:

1. **Žádné**
2. **Jednoduché zařízení**
3. **POCT (point of care testing) analyzátor**
4. **Analyzátor stolní**
5. **Analyzátor samostatně stojící**
6. **Linka**

Přístrojové vybavení:

1. Žádné
2. Jednoduché zařízení
3. **POCT (point of care testing) analyzátor**
4. Analyzátor stolní
5. Analyzátor samostatně stojící
6. Linka

Přístrojové vybavení:

1. Žádné
2. Jednoduché zařízení
3. POCT (point of care testing) analyzátor
4. **Analyzátor stolní**
5. Analyzátor samostatně stojící
6. Linka

Přístrojové vybavení:

1. Žádné
2. Jednoduché zařízení
3. POCT (point of care testing) analyzátor
4. Analyzátor stolní
5. **Analyzátor samostatně stojící**
6. Linka

Přístrojové vybavení:

1. Žádné
2. Jednoduché zařízení
3. POCT (point of care testing) analyzátor
4. Analyzátor stolní
5. Analyzátor samostatně stojící
6. [Linka](#)

Časová náročnost:

1. **Sekundy**
2. **Minuty**
3. **Hodiny**
4. **Dny**
5. **Týdny**



Časová náročnost:

1. Sekundy
2. **Minuty**
3. Hodiny
4. Dny
5. Týdny

Časová náročnost:

1. Sekundy
2. Minuty
3. Hodiny
4. Dny
5. Týdny

Časová náročnost:

1. Sekundy
2. Minuty
3. Hodiny
4. Dny
5. Týdny

Časová náročnost:

1. Sekundy
2. Minuty
3. Hodiny
4. Dny
5. Týdny

Každý analyt lze měřit/zjistit víc než jednou metodou!

1 princip může mít víc modifikací

Každá metoda má nějaký limit

**Pochopení principu metody =
správná interpretace (neobvyklých) výsledků**

referenční interval zahrnuje 95 % hodnot

=

**5 % zdravých zvířat má hodnoty mimo RR
(mírně nad / pod)**

**s počtem testů roste pravděpodobnost
"abnormálního" výsledku u zdravého jedince**

pro 21 testů, $p = 66 \%$

Vlastnosti metod:

1. Citlivost
2. Specifičnost
3. Přesnost
4. Správnost

palpace

USG

cytologie

FC

PCR

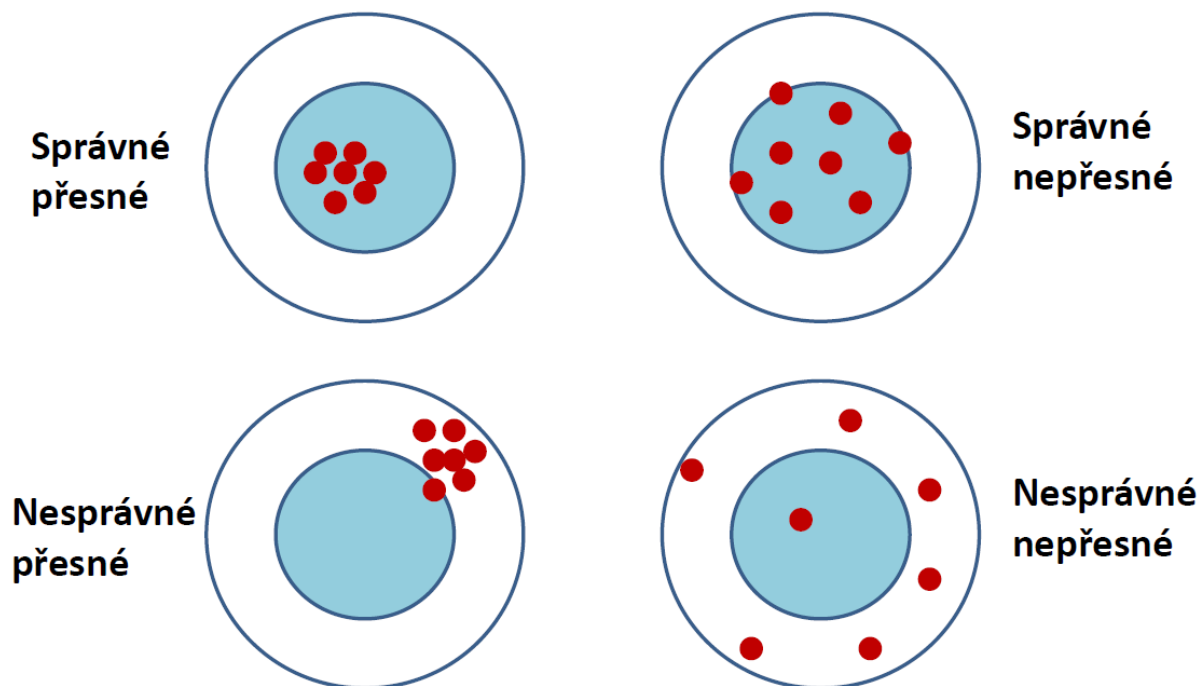
několik cm několik mm stovky-tisíce b. 1 b./1 000 b. 1 b./10 000 b.

Vlastnosti metod:

1. Citlivost
2. **Specifičnost**
3. Přesnost
4. Správnost

Vlastnosti metod:

1. Citlivost
2. Specifičnost
3. Přesnost
4. Správnost



Kontrola kvality

kvalita všech faktorů zahrnutých do procesu

2 or 3 úrovně (nízká, střední, vysoká)

cílová hodnota $\pm 2SD$



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Kontrola kvality

RANDOX

Abbott Architect c/ci Systems®

ASSAYED HUMAN SERA LEVEL 3 (HUM ASY CONTROL 3)

Lot No. 620UE Cat. No. HE1532 / HS2611

Size: 20 x 5ml / 5 x 5ml Expiry: 2017-01

Analyte	unit	target	low	high	1SD	2SD	methods
Albumin	g/l	28.7	24.4	33.0	2.15	4.30	Bromocresol Green
	g/dl	2.87	2.44	3.30	0.22	0.43	
	g/l	28.5	24.2	32.8	2.15	4.30	Bromocresol Purple
	g/dl	2.85	2.42	3.28	0.22	0.43	
Alkaline Phosphatase	U/l	323	274	372	24.50	49.00	AMP optimised to IFCC 37°C
	U/l	324	275	373	24.50	49.00	AMP non-optimised 37°C
ALT (GPT)	U/l	130	104	156	13.00	26.00	Tris buffer without P5P 37°C
AST (GOT)	U/l	132	105	159	13.50	27.00	Tris buffer without P5P 37°C
Bicarbonate	mmol/l	14.5	11.5	17.5	1.50	3.00	Enzymatic
Bile Acids	μmol/l	51.4	41.2	61.6	5.10	10.20	Enzymatic Colorimetric
Bilirubin Direct	μmol/l	28.9	22.9	34.9	3.00	6.00	Diazo with Sulphanilic Acid
	mg/dl	1.69	1.34	2.04	0.18	0.35	
	μmol/l	29.0	22.9	35.1	3.05	6.10	Diazo with Dichloroaniline (DCA)
	mg/dl	1.70	1.34	2.06	0.18	0.36	
Bilirubin Total	μmol/l	84.8	67.0	103	8.90	17.80	Diazo with Dichloroaniline (DCA)
	mg/dl	4.96	3.92	6.00	0.52	1.04	
	μmol/l	83.6	66.1	101	8.75	17.50	Diazo with Sulphanilic Acid
	mg/dl	4.89	3.87	5.91	0.51	1.02	
	μmol/l	90.2	71.3	109	9.45	18.90	Dichlorophenyl Diazonium (DPD)
	mg/dl	5.28	4.17	6.39	0.56	1.11	
	μmol/l	86.6	68.4	105	9.10	18.20	Diazonium ion
	mg/dl	5.07	4.00	6.14	0.54	1.07	

Kontrola kvality

kvalita všech faktorů zahrnutých do procesu

2 or 3 úrovně (nízká, střední, vysoká)

cílová hodnota $\pm 2SD$



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Výsledky:

1. Numerické
2. Křivky
3. Grafy
4. Subjektivní morfologie

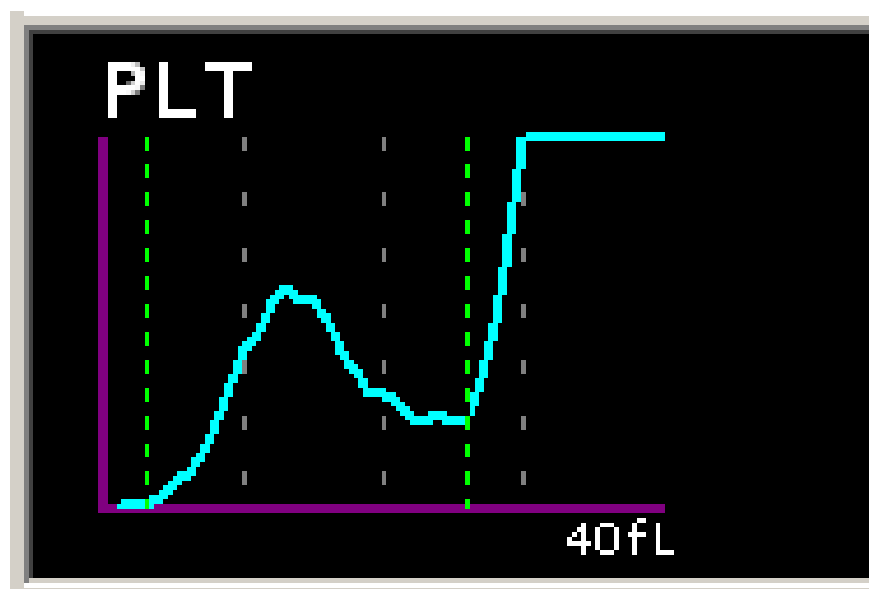
Items			WBC Differential		
Item	Data	Unit	Item	Data	Unit
WBC	7.50	10 ⁹ /L	NEUT#	4.33	10 ⁹ /L
RBC	7.98 +	10 ¹² /L	LYMPH#	1.84	10 ⁹ /L
HGB	193 +	g/L	MONO#	0.52	10 ⁹ /L
HCT	0.513	L/L	EO#	0.79	10 ⁹ /L
MCV	64.3	fL	BASO#	0.02	10 ⁹ /L
MCH	24.2	pg			
MCHC	376	g/L	Item	Data	Unit
PLT	119 *	10 ⁹ /L	NEUT%	57.8	%
RDW-SD	34.8	fL	LYMPH%	24.5	%
RDW-CV	17.4	%	MONO%	6.9	%
PDW	----	fL	EO%	10.5	%
MPV	----	fL	BASO%	0.3	%
P-LCR	----	%			
PCT	----	L/L			
RET%		%	Flag(s)		
RET#		10 ⁹ /L	WBC		
IRF		%			
LFR		%			
MFR		%			
HFR		%			

RBC/RET	
Erythro+	

PLT	
PLT Abn Dst	

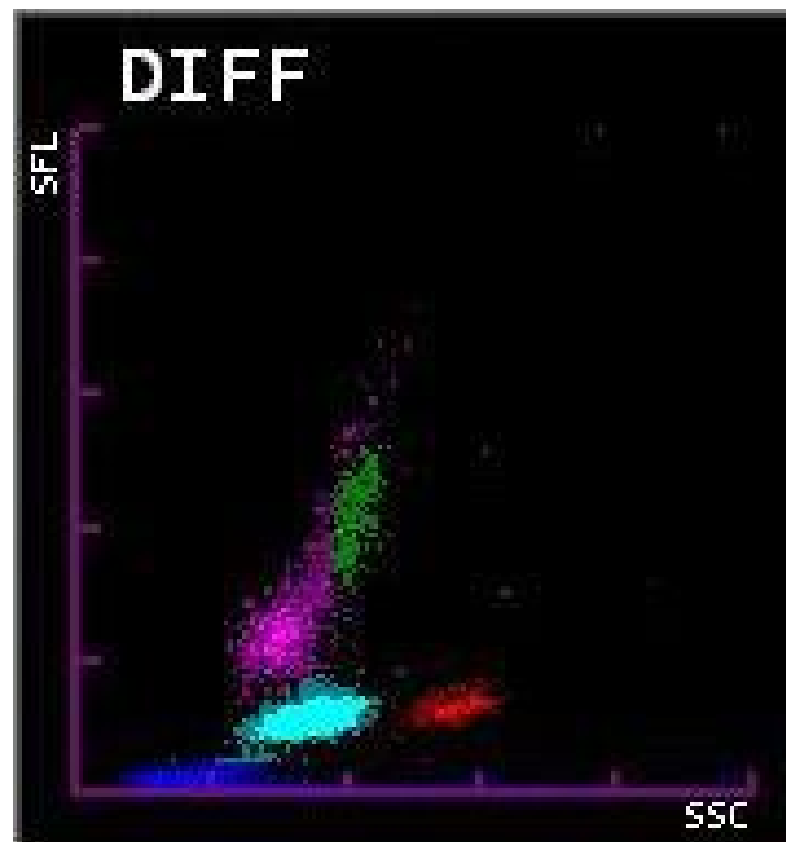
Výsledky:

1. Numerické
2. Křivky
3. Grafy
4. Subjektivní morfologie



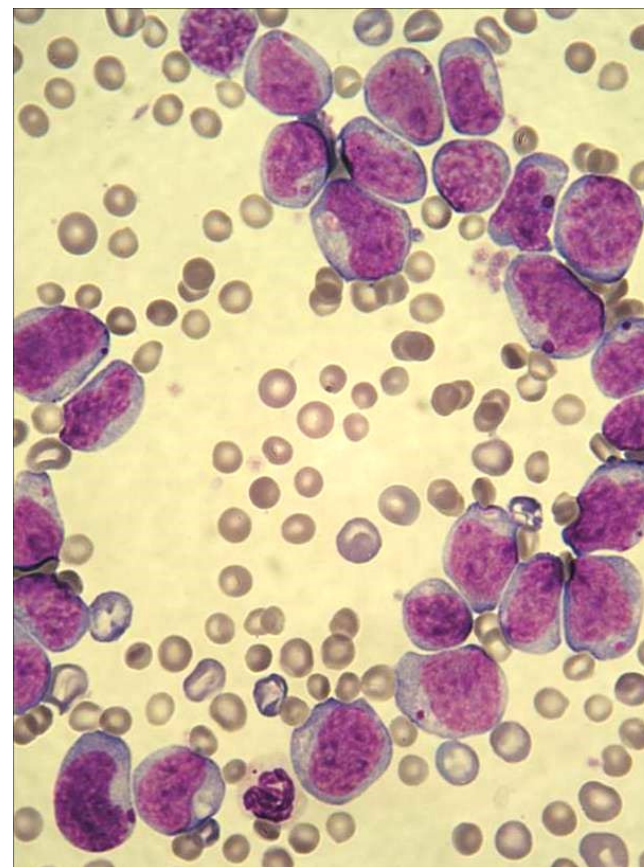
Výsledky:

1. Numerické
2. Křivky
3. Grafy
4. Subjektivní morfologie



Výsledky:

1. Numerické
2. Křivky
3. Grafy
4. Subjektivní morfologie





Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků

MVDr. Ivana Váňová, Ph.D.

Klinická laboratoř pro malá zvířata

VETUNI Brno

vanovai@vfu.cz



ODBĚR:

Čas (ráno, večer)

Lokalizace (arteriální/venózní krev, v. cephalica/v. jugularis...)

Medikace (před podáním / po podání)

ODEBÍRANÝ MATERIÁL:

plná krev (plazma, sérum)

efuze

moč

bronchoalveolární laváž / transtracheální aspirace

mozkomíšní mok

synoviální tekutina

kostní dřeň

jiná tekutina (cysta...)

tenkojehelné biopsie

LAB. VYŠETŘENÍ:

Variabilní objem vzorku pro analýzu (μl – ml)

Variabilní zpracování vzorku:

centrifugace (variabilní rcf, variabilní čas) - založena na rozdílné specifické hmotnosti jednotlivých součástí krve, oddělení (separace)

extrakce

ředění

...

LAB. VYŠETŘENÍ:

Variabilní stabilita parametrů (min – hod – dny – měsíce)

Podmínky skladování:

Při lab. teplotě

Při teplotě 2-7° C

Při teplotě -20° C

Při teplotě -80° C

Čím nižší teplota, tím delší možnost skladování

Podmínky transportu = podmínky uchování!

LAB. VYŠETŘENÍ:

Podmínky skladování:

	Mrazničková teplota	Ledničková teplota	Laboratorní teplota
Nativní krev	--	24 h	2 h
EDTA krev	--	24 h Retikulocyty do 2h	1-2 h
Citrátová krev	dlouhodobě	24 - 48 h	24 - 48 h (kromě fibrinogenu)
Heparin - ABR vyš.	--	2 h	20 min
Sérum/	1 měsíc	10 dnů	2 h

ODBĚRY BIOL. MATERIÁLU PRO LAB. VYŠETŘENÍ



LAB. VYŠETŘENÍ:

Statim

Rutinně (min – dny – týdny)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

ÚČEL LAB. VYŠETŘENÍ:

- Potvrzení nebo vyloučení výsledků klinického a paraklinického vyšetření – objektivizace, stanovení diagnózy
- Kontrola účinnosti terapie, dietních opatření aj.
- Stanovení aktivity onemocnění a jeho komplikací (prognóza)
- Stanovení určitého znaku nebo vlastnosti vyšetřovaného materiálu (např. krevní skupiny)
- Screening (metabolické testy)
- Stanovení/zpřesnění referenčních hodnot pro určitý druh druh, kategorii nebo skupinu zvířat
- Výzkum

ODBĚR VZORKŮ:

místa odběru: – pes, kočka: v. saphena, v. cephalica accessoria, příp. v. femoralis, – skot: v. jugularis, příp. v. coccygea, – malí přežvýkavci: v. jugularis, – kůň: v. jugularis, – potkan, myš: vv. caudales laterales, – králík: vv. auriculares caudales

dobu odběru: – nejlépe ráno, nalačno (po periodě odpočinku, nepřijímání léků, krmiva), – u drobných savců a mláďat max. 6 h

způsob odběru: – stejná poloha zvířete – fixace, – minimální komprese, – zvláště šetrný odběr musí být na hemostazeologické vyšetření – metoda dvou zkumavek

označení vzorků: – správné, zřetelné a nestíratelné

TRANSPORT VZORKŮ:

rychlý, – tzn. krátký časový interval mezi odběrem a příjmem, resp. vyšetřením vzorků

šetrný, – tzn. bez vystavení vzorků vysoké nebo nízké teplotě, nadměrnému osvětlení, otřesům

bezpečný, – tzn. nesmí dojít k vylití obsahu, znečištění okolí apod.





Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků

MVDr. Ivana Váňová, Ph.D.

Klinická laboratoř pro malá zvířata

VETUNI Brno

vanovai@vfu.cz



FÁZE A HLAVNÍ CHYBY LAB. VYŠETŘENÍ



- **Preanalytická fáze**

- Indikace
- Příprava pacienta, materiálu
- Druh vzorku, odběr a zpracování
- Žádanka
- Transport a uchování materiálu

- **Analytická**

- Příprava vzorku
- Vlastní vyšetření

- **Postanalytická**

- Výpočty
- Interpretace
- Zpráva



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Správné indikace

- mezidruhové rozdíly
 - např. CRP u psa, SAA u kočky
- rozlišení mezi poškozením orgánů a orgánovou dysfunkcí
 - např. ALT neodráží selhání jater
 - např. pankreatická lipáza neodráží pankreatickou dysfunkci
- specifický výběr testu
 - např. stanovení estradiolu není vhodné pro detekci ovarian remnant syndrome
- indikace ve vztahu ke stavu a medikaci zvířete
 - např. měření UCCR u zvířat na terapii prednisonem bude vždy pozitivní

FÁZE A HLAVNÍ CHYBY LAB. VYŠETŘENÍ



VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Vhodný materiál

- ➔ dle žádanky
- ➔ nebo se zeptejte laboratoře
- ➔ i pro stejný analyt se může lišit mezi lab

Vitamin B1 EB,HB/1ml !..

Vitamin B2 EB,HB/1ml !..

Vitamin B6 EB,HB/1ml !..

Vitamin B12 S/0,5ml

Großes Screening NaFB+S/1ml

+ Blutbild EB/1ml

α-Amylase, Lipase, Glucose, Fructosamine, Chol, Bil, AP, GLDH, ALT, AST, CK, Eiweiß, Albumin, Globuline, Alb/Glob-Quotient, Triglyceride, γ-GT, Harnstoff, Kreatinin, PO4, Mg, Ca, Na, Kalium, Na-K/Quotient, Fe

Pathogen	Animal species	Sample material
Adenoviruses	reptile	swab (cloaca or pharynx), tracheal lavage, tissue (e.g. intestine or liver)
Adenoviruses	bird	swab (cloaca), faeces, tissue (e.g. intestine, liver, pancreas, or kidney)
Aleutian Mink Disease Virus	ferret, mink, other	EDTA blood (viraemia), swab (rectum), tissue (e.g. spleen, lymph node, or bone marrow)
Arenaviruses (IBD)	boa, python	EDTA blood, tissue (e.g. liver, pancreas, kidney, or brain), swab (oesophagus)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Vhodný čas odběru závisí na

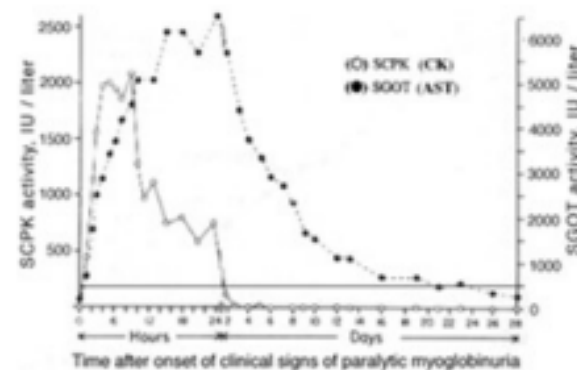
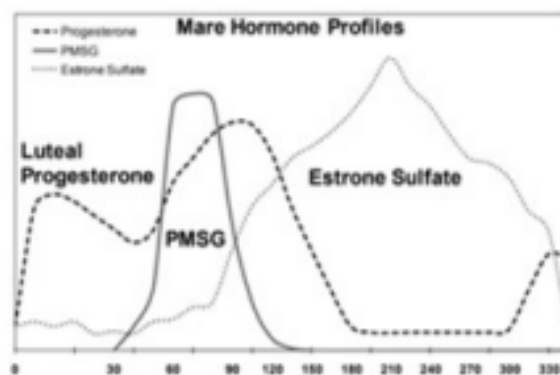
- chování očekávaného onemocnění (patogenezi) nebo stavu
- poločasu rozpadu analytu
- fyziologické prodlevě odpovědi organismu
- terapie: dosažení minimální/maximální/steady-state koncentraci léku

VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Vhodný čas odběru

- ➔ např. měření pohlavních hormonů
- ➔ např. vzhledem k poločas rozpadu



VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Vhodný čas odběru

- např. měření protilátek v raném stadiu onemocnění (např. leptospira)
- např. měření protilátek pro průkaz aktuální infekce (např. anaplasma)
- např. hodnocení regenerace kostní dřeně (fyziologické zpoždění u ery)
- např. opakované měření pro monitoring onemocnění
 - např. CRP každý den nebo dva
 - např. jaterní enzymy ve fázi poklesu každých 7-14 dní
 - tyroxin pro diagnostiku hyperthyreózy za 1-2 měsíce
 - kontrola elektrolytů u medikovaného stabilního addisona dvakrát ročně

PACIENT

PREANALYTICKÁ FÁZE

Fyzická aktivita

běh, trénink, agility, závod

- ➔ hemokoncentrace, kontrakce sleziny
- ➔ nařednění krve
- ➔ svalový katabolismus
- ➔ vyšší přísun proteinů

PACIENT & VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Stres

EFEKT KATECHOLAMINŮ A KORTIZOLU

- zvýšení glukózy, glukosurie (kočka)
- zvýšení kortizolu
- stresový leukogram a leukocytóza
 - vysoké leucs, neu, mo
 - nízké eos, ly

PACIENT & VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Stres

EFEKT KATECHOLAMINŮ - HYPERVENTILACE

- ➡ respirační alkalóza
- ➡ pokles fosforu

VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Odběr krve - odběr

PŘÍLIŠ DLOUHÁ KOMPRESIE

⇒ respirační acidóza

VYTLAČOVÁNÍ KRVE

⇒ aktivace koagulace

⇒ mechanické poškození buněk

KONTAMINACE ANTISEPTIKY, VODOU

⇒ hemolýza

VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Odběr krve - uchování

PŘILIŠ NÍZKÁ NEBO VYSOKÁ TEPLOTA

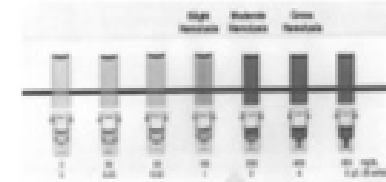
- ⇒ hemolýza (zmražení)
- ⇒ inaktivace enzymů

PONECHÁNÍ VZORKU NA SVĚTLE

- ⇒ degradace bilirubinu

OPOŮDĚNÁ SEPARACE PLAZMY/SÉRA

- ⇒ pokles glukózy, zvýšení laktátu
- ⇒ degradace citlivých parametrů (ACTH, natriuretické peptidy, inzulin,...)



VETERINÁŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Odběr krve - uchování

HEMOLÝZA

- ➔ problém u neseparovaného vzorku, zejména terénní veterináři
- ➔ určitý stupeň hemolýzy je ve vzorku přítomen vždy, pokud nedojde k separaci
- ➔ vede ke změnám výsledků různým mechanismem:
 - ➔ vyloučení z erytrocytů (AST, LDH, ALT, P, K)
 - ➔ interference kvůli kolorimetrickému měření nebo degredačních produktů membrán (CK, ...)
- ➔ v hematologii disproporce mezi Hb a Hct

Odběr krve - uchování

HEMOLÝZA

➡ v závislosti od metody, ale obecně...

VETERINÁŘ

Hemolysis (g/L of free hemoglobin)							
0.1 g/L	0.5 g/L	1 g/L	2 g/L	3 g/L	4 g/L	5 g/L	10 g/L
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Degree of hemolysis	Tests are affected by hemolysis more than 10%:						
1.	-						
2.	AST, K, LD, TBil, TnT						
3.	All previous + CK						
4.	All previous + Mg						
5.	All previous + Amy, Prot, Urea						
6.	All previous + P						
7.	All previous + Alb, ALP, ALT, Ca, Cl, Crea, CRP, DBil, GGT, Glu, Lact, Lip, EtOH, Na						

LABORATOŘ

PREANALYTICKÁ FÁZE

Příjem do laboratoře

Rozbalení vzorku

Správné zařazení vzorku

Správné označení vzorku

Správné uchování vzorku

LABORATOŘ

ANALYTICKÁ FÁZE

Příjem do laboratoře

Rozmražení

Míchání

Zahřátí na laboratorní teplotu

Ředění

Měření

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Nedostatečné množství (méně než 100 μ l)

➡ nízký KO

Agregace buněk nebo sraženiny

➡ nízký KO nebo jedna populace

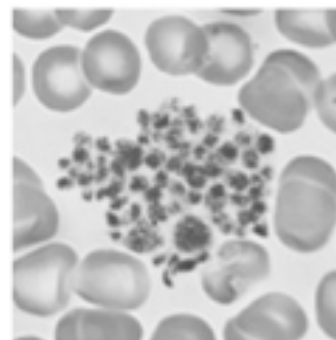


Photo: K. Rehakova

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Interference

- erythrocyty *versus* makrotrombocyty
- trombocyty *versus* sférocyty/schistocyty

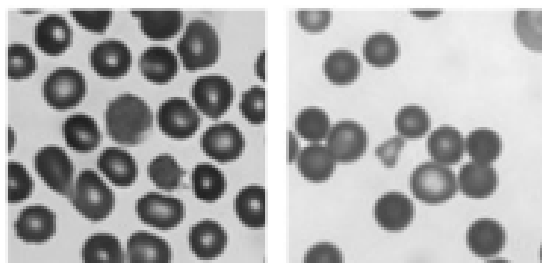


Foto: K. Rehakova

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

Zlý profil

Kočky a koně mají menší erytrocyty než
např. pes

ANALYTICKÁ FÁZE

	Koza jako kůň	Koza jako člověk
WBC	9,4	9,2
RBC	12,7	0,59
Hb	85	86
Ht	0,26	0,3
MCV	20,9	51
MCH	6,7	OVER
MCHC	320	OVER
PC	604	OVER

Tab: K. Rehakova

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Interference

Retikulocyty *versus* jaderní materiál/zbytky RNA/inkluze

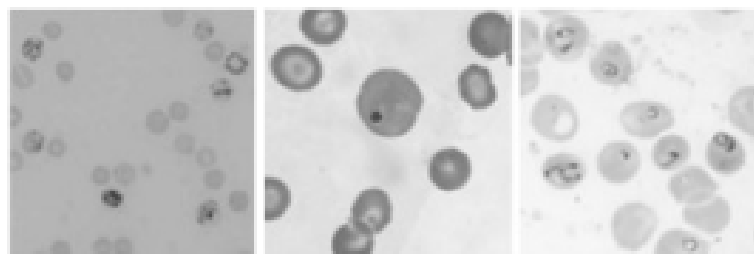


Foto: K. Rehakova

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Interference

Erythroblasty *versus* lymfocyty

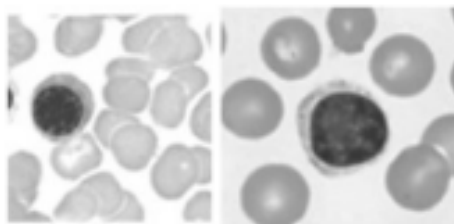


PHOTO CREDIT
<https://quidnet.com/2020/09/14/16-morphology-pale-blood-cell-card/>
<https://veteriankey.com/10-white-blood-cells-immune-system-and-immunological-stewards/>

	In-house	Manuální dif.	Skutečná hod.
WBC	38	?	18
Neu	8	60 %	10,8
Ly	28	32 %	5,7
Mo	1	8 %	1,4
Eos	0,6	0 %	0
Baso	0,7	0 %	0
Erybl	NA	109/100 WBC	

Korekce:

pokud > 5 erybl během DIFF ze 100 WBC:

$C \text{ WBC} = 100 / (\text{erybl} + 100) \times \text{WBC}$

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Interference

Tyčky *versus* monocyty

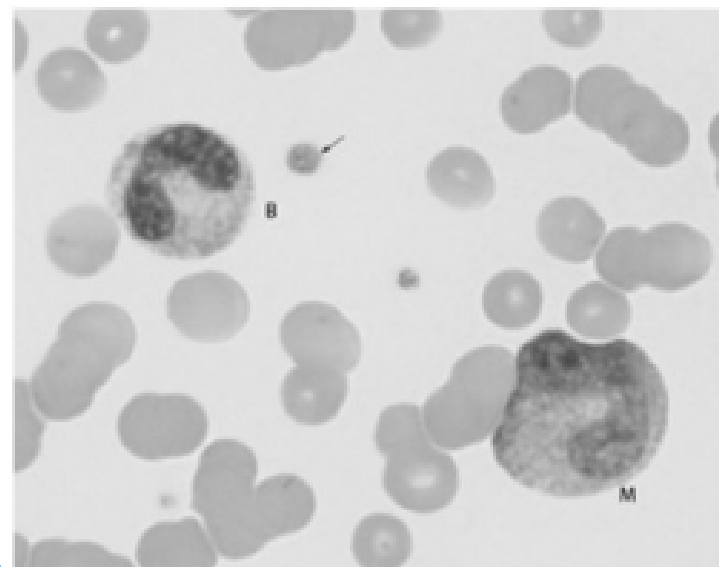


PHOTO CREDIT
<https://vettopath.com/articles/hematology/white-blood-cell-changes/leukocytes/page/2>

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Interference

Velké lymfocyty *versus* monocyty

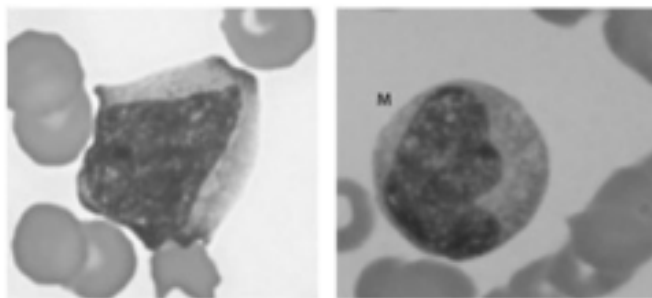


PHOTO CREDIT
<https://veteriankey.com/10-white-blood-cells-immune-status-and-artificial-stewardship/>
<https://iStockphoto.com/100/hematology/basic-change/trigger/100/page/10>

HEMATOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

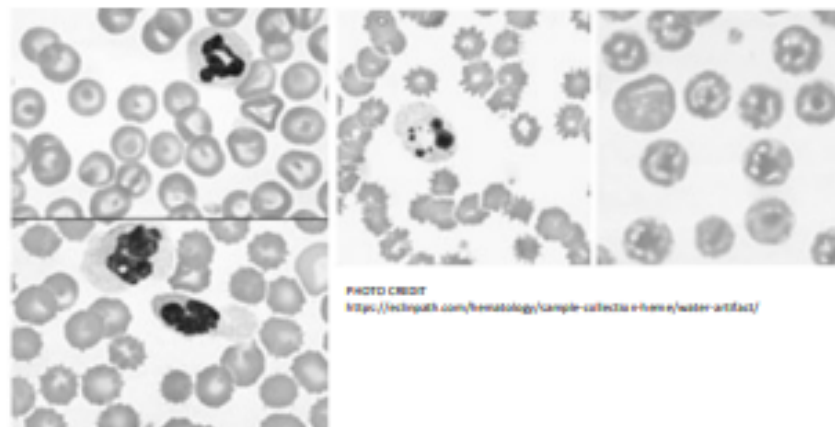
ANALYTICKÁ FÁZE

Nevhodný krevní nátěr

Stará krev

Poškozené buňky

Kontaminace vodou



BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Kvalita vzorku

Nevhodné zahřátí vzorku

> např. ALP

Opětovné zamražení

> např. CRP

nevhodné míchání (po rozmražení)

> nízká koncentrace

Nevhodné množství vzorku

> viskozita, zbytky fibrinu



Foto: K. Rehakova

BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ

ANALYTICKÁ FÁZE

Metody

- Nesprávná kalibrace
- Exspirovaný kalibrátor
- Exspirované reagens
- Odpařování reagens
- Nevhodný objem vzorku/reagens
- Kontaminace (činnidly, mikroorganismy)
- Interference
 - > lipemie
 - > léky

VYDÁNÍ VÝSLEDKU

POSTANALYTICKÁ FÁZE

Chyby

Chyby v přepisu výsledků z analyzátoru do protokolu

Zlé přiřazení výsledků ke vzorku

Zlé přiřazení referenčních hodnot



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků

MVDr. Kristína Řeháková, Ph.D.

Klinická laboratoř pro malá zvířata

VETUNI Brno

rehakovak@vfu.cz



Krevní obraz
Morfologie

Další testy:

Biochem. analýzy (deficit Fe)

PCR (Babesia)

Odběr kostní dřeně (leukemie)

Krevní obraz: základní principy

Impedance

suspenze buněk prochází vodivým polem elektrolytového roztoku
tvořeným 2 elektrodami

pasáž v místě detekce = změna odporu proudu

velikost odporu =
velikost buňky
RBC, WBC, PLT

Krevní obraz: základní principy

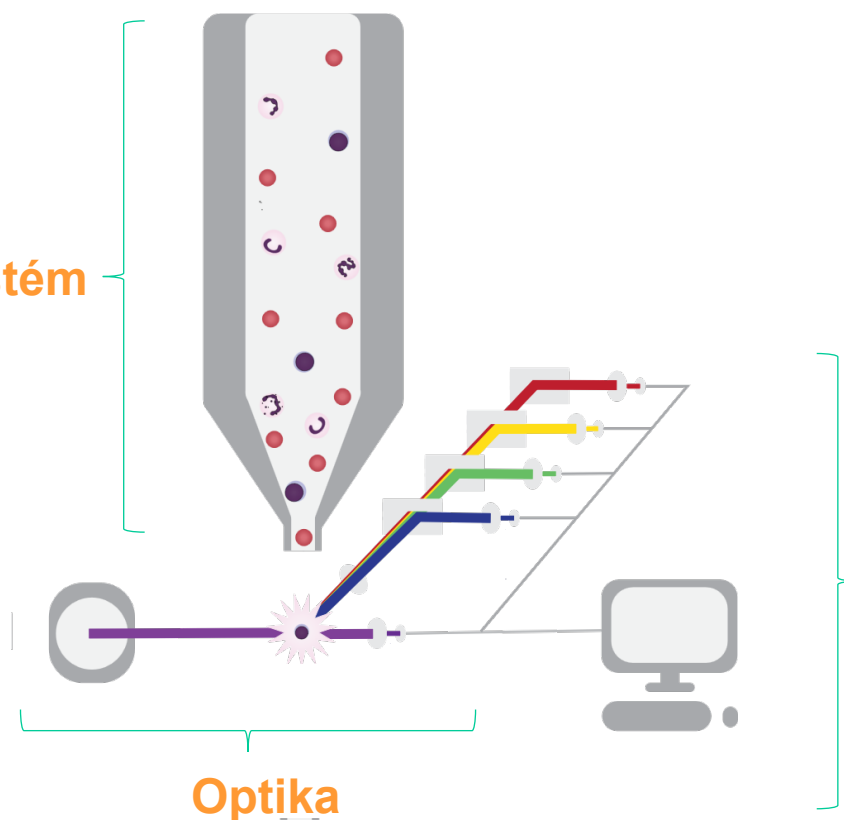
Průtoková cytometrie

suspenze fluorescenčně značených b. prochází kapilárou

pasáž v místě detekce =
absorbce a refrakce
laserového paprsku

Ret
Neu...

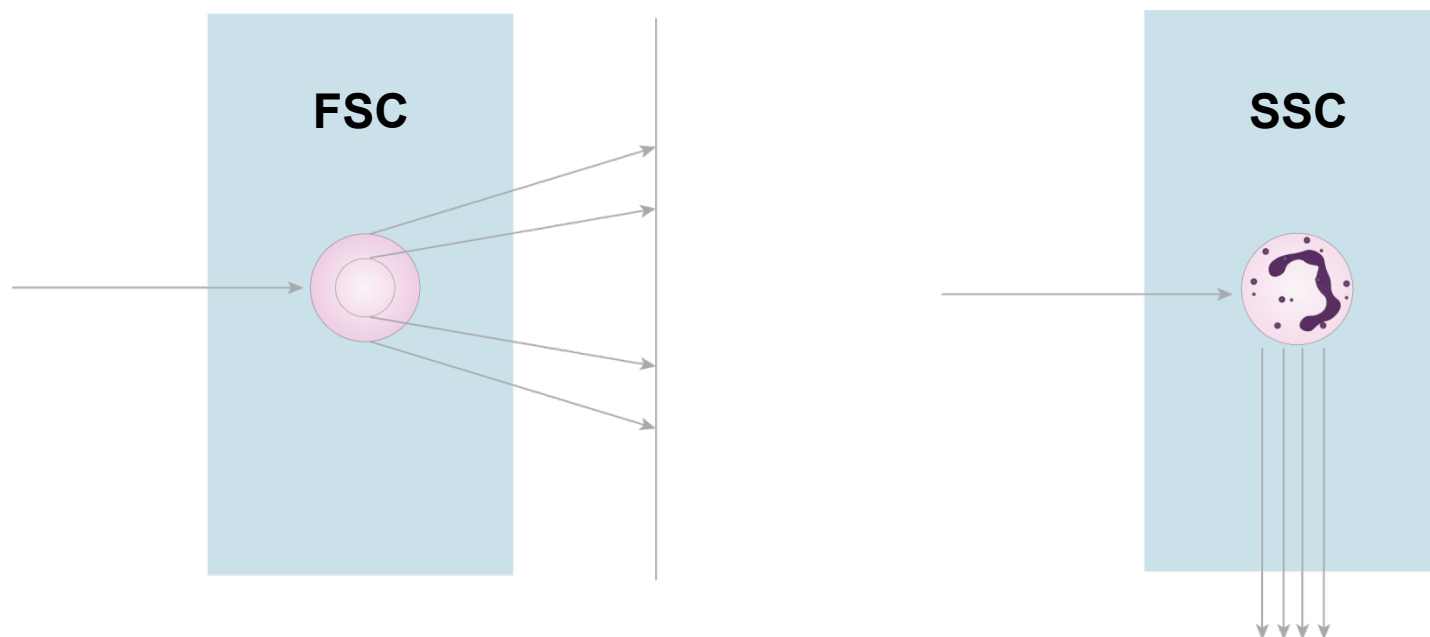
Fluidní systém



Elektronika

Optika

Krevní obraz: diferenciální rozpočet



Krevní obraz: diferenciální rozpočet

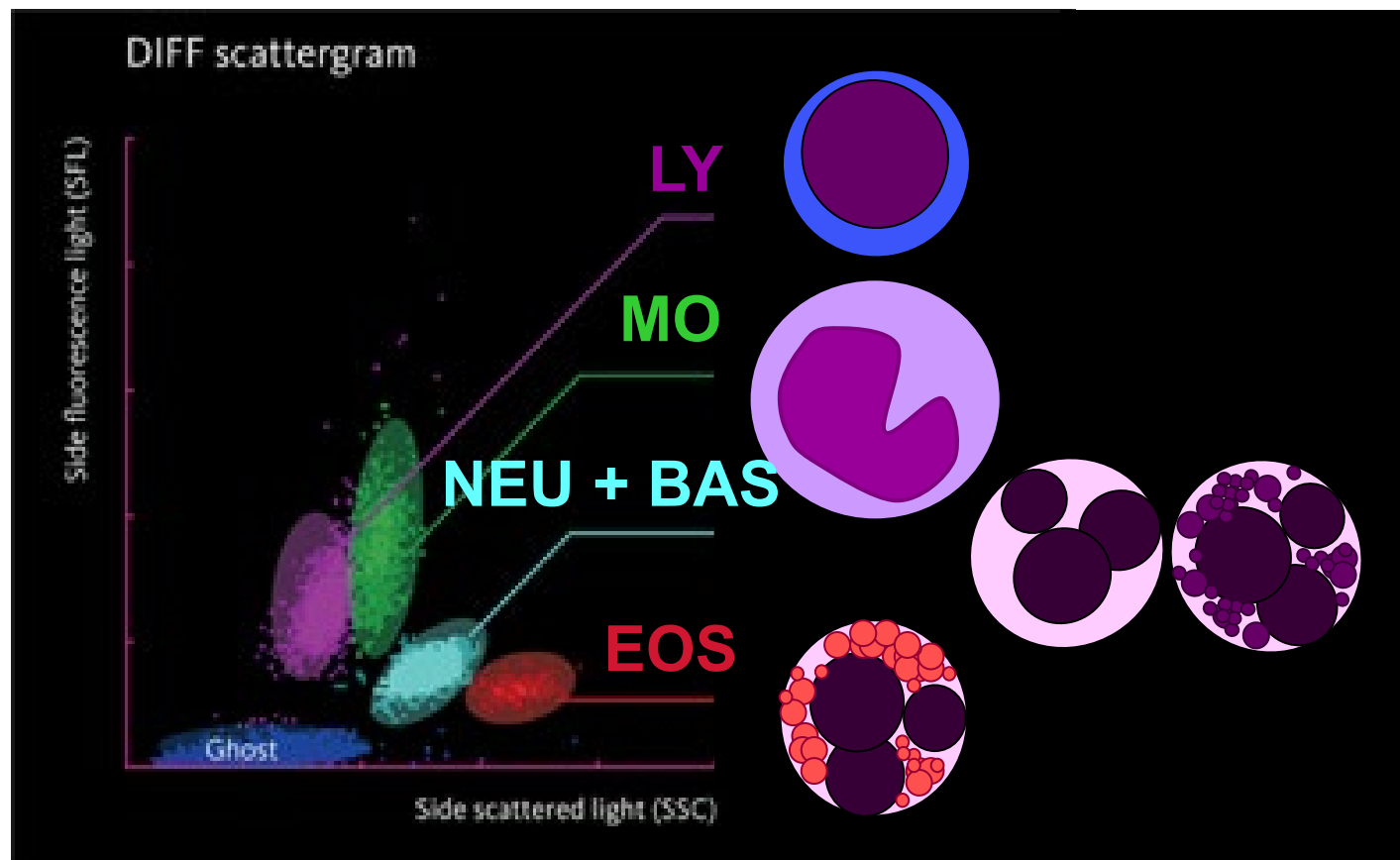
Fluorescenční průtoková cytometrie

hlavní rozptyl (FSC) = velikost buňky

boční rozptyl (SSC) = vnitřní struktura buňky

intenzita fluorescence (SFL) = obsah nukleových kys.

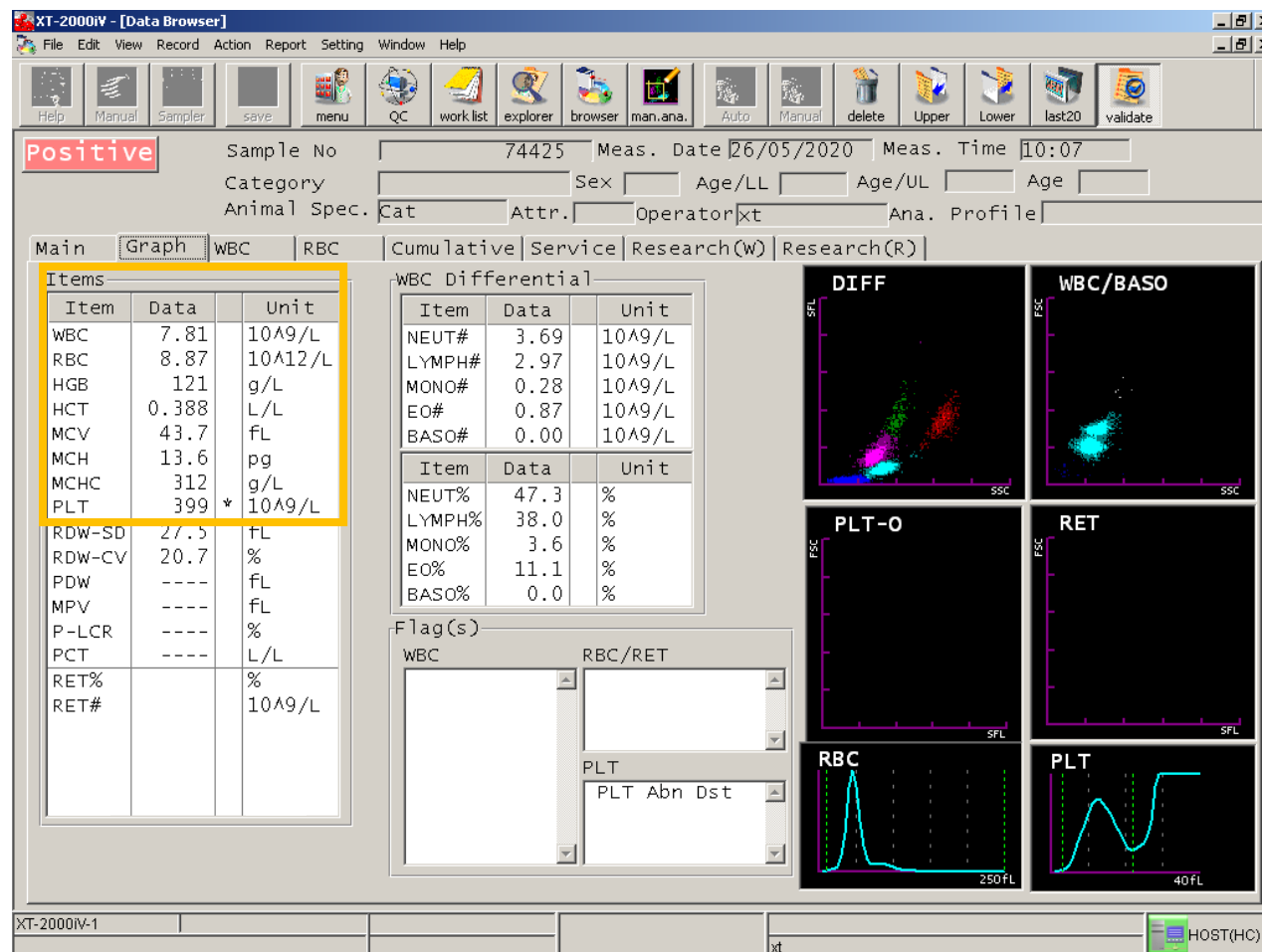
Krevní obraz: diferenciální rozpočet



HEMATOLOGICKÝ PROFIL



Krevní obraz: základní parametry



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

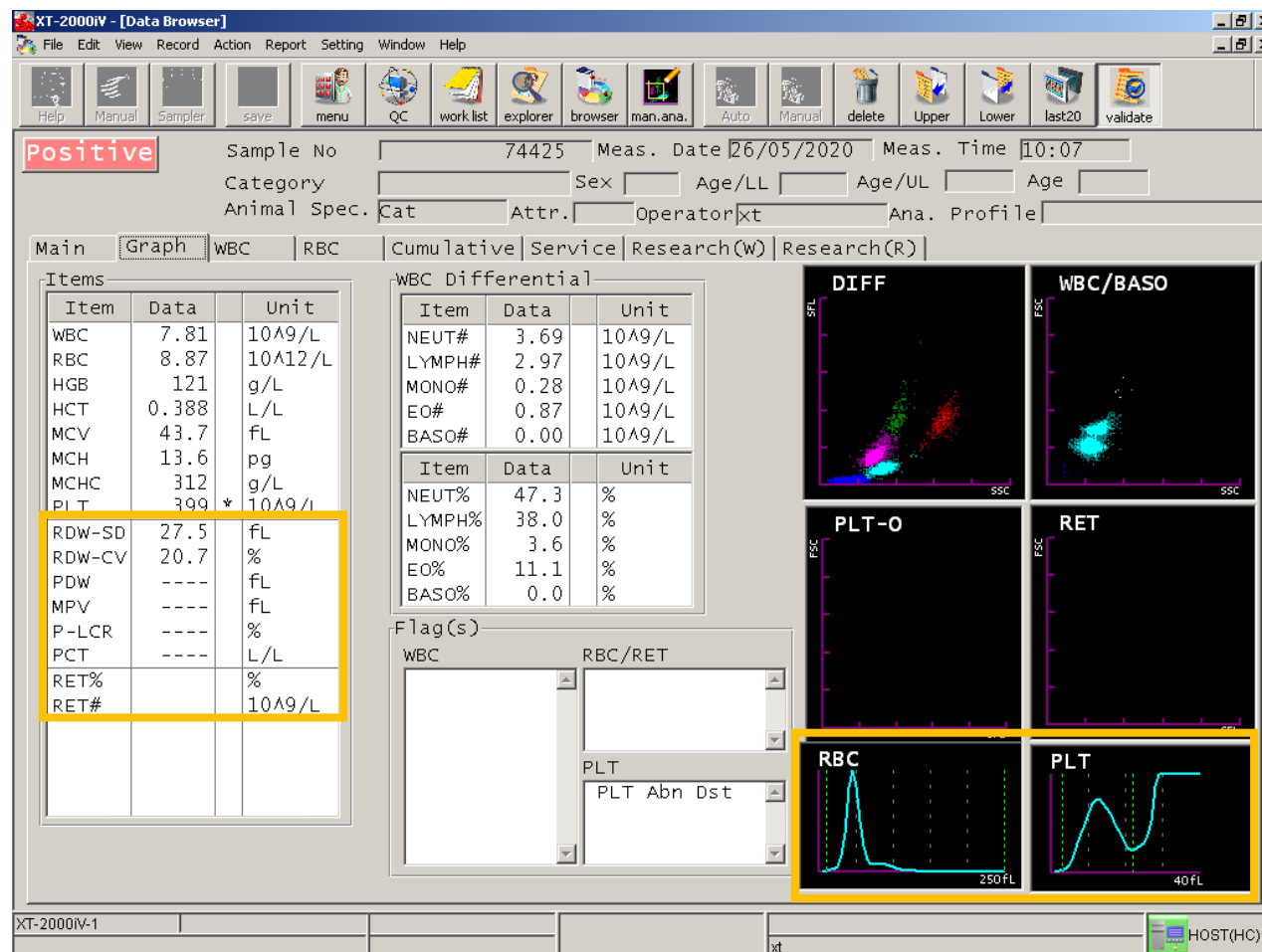


Národní
plán
obnovy

HEMATOLOGICKÝ PROFIL



Krevní obraz: další parametry RBC a PLT



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

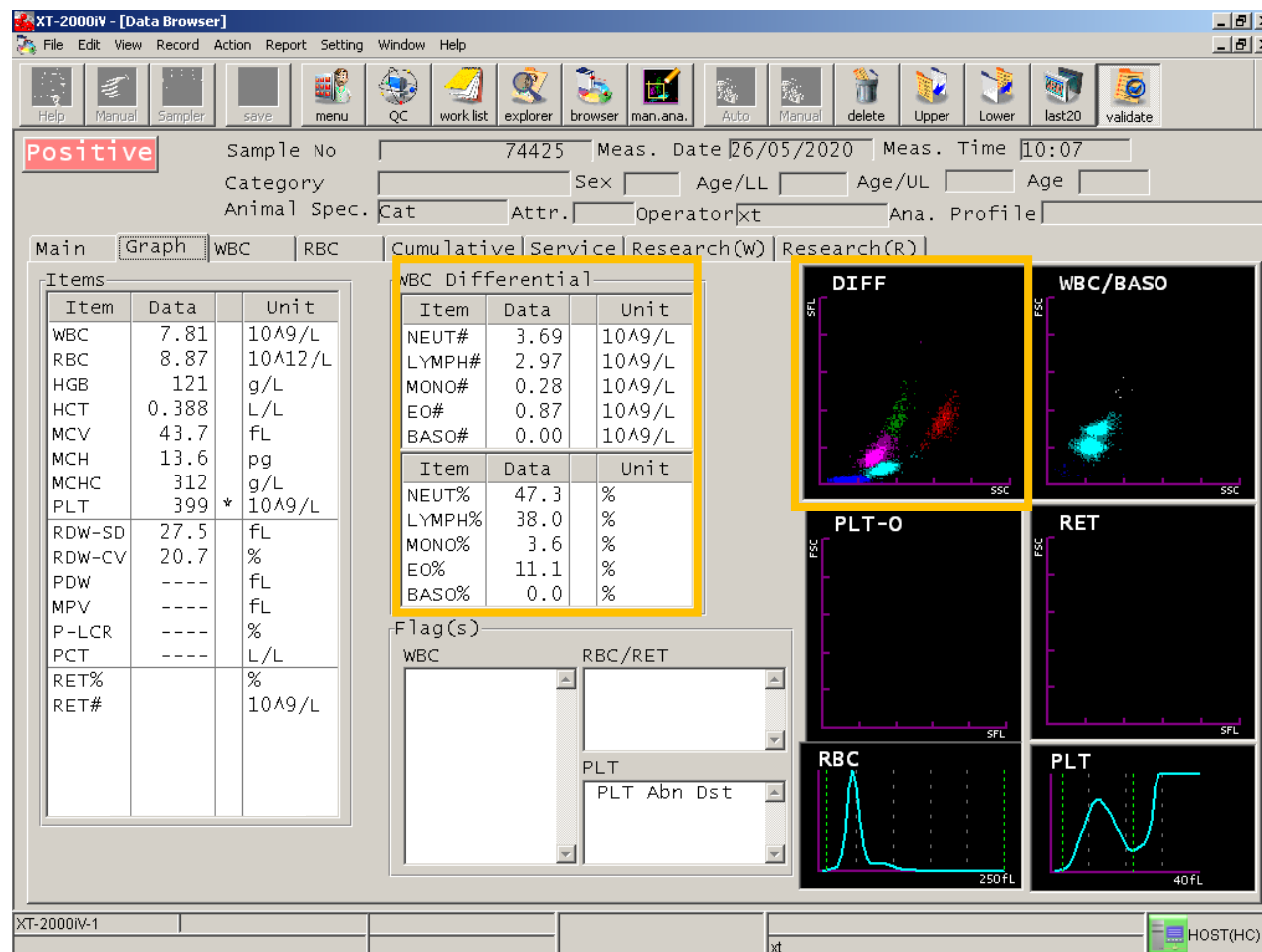


Národní
plán
obnovy

HEMATOLOGICKÝ PROFIL



Krevní obraz: diferenciální rozpočet



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

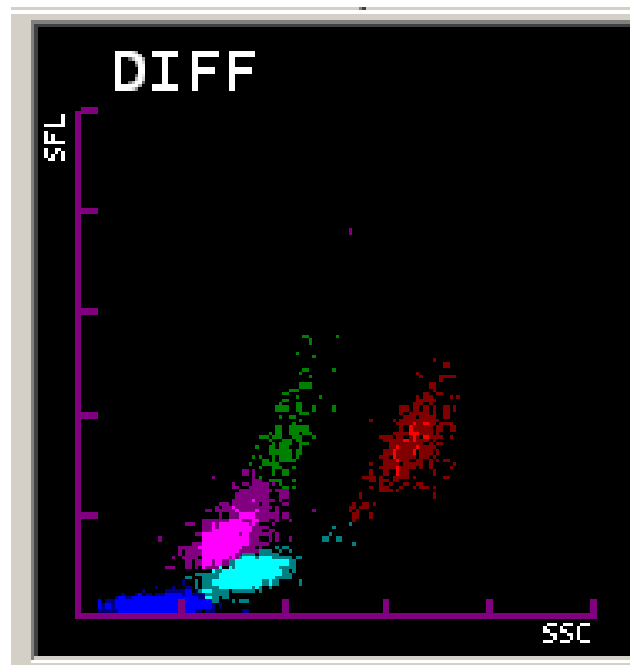
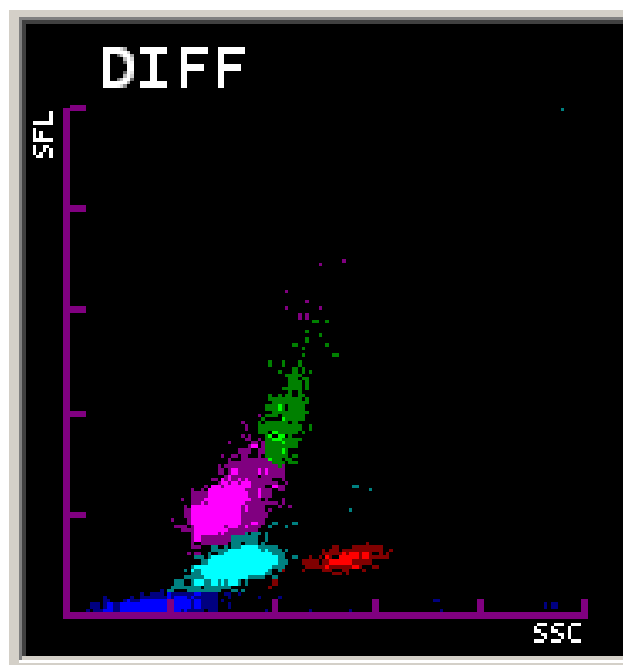


Národní
plán
obnovy

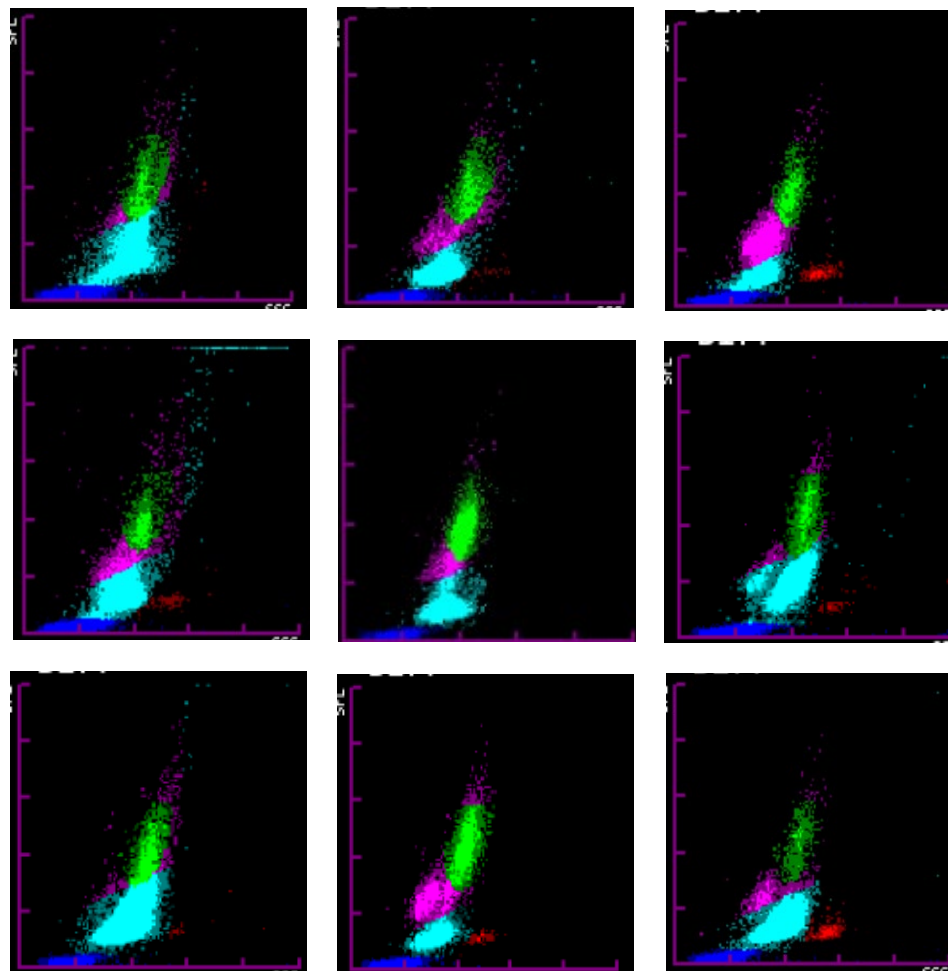
Krevní obraz: diferenciální rozpočet

Ca

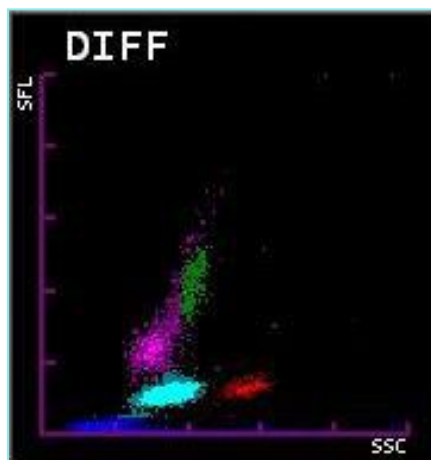
Fe



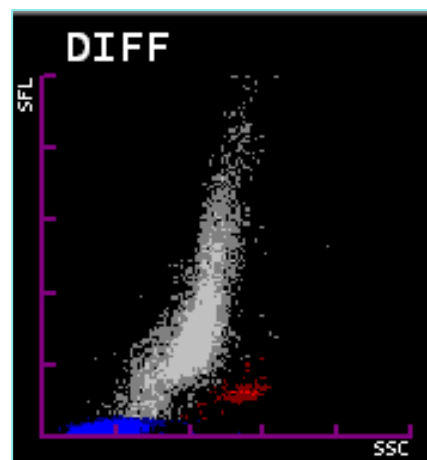
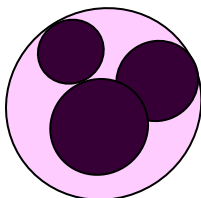
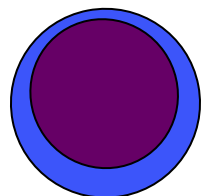
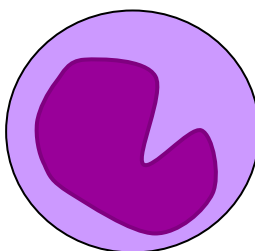
Krevní obraz: diferenciální rozpočet



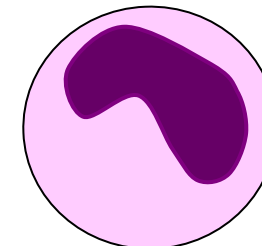
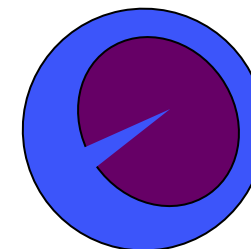
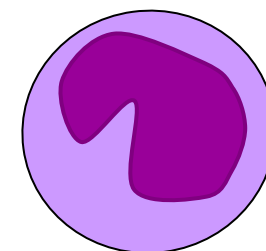
Krevní obraz: diferenciální rozpočet



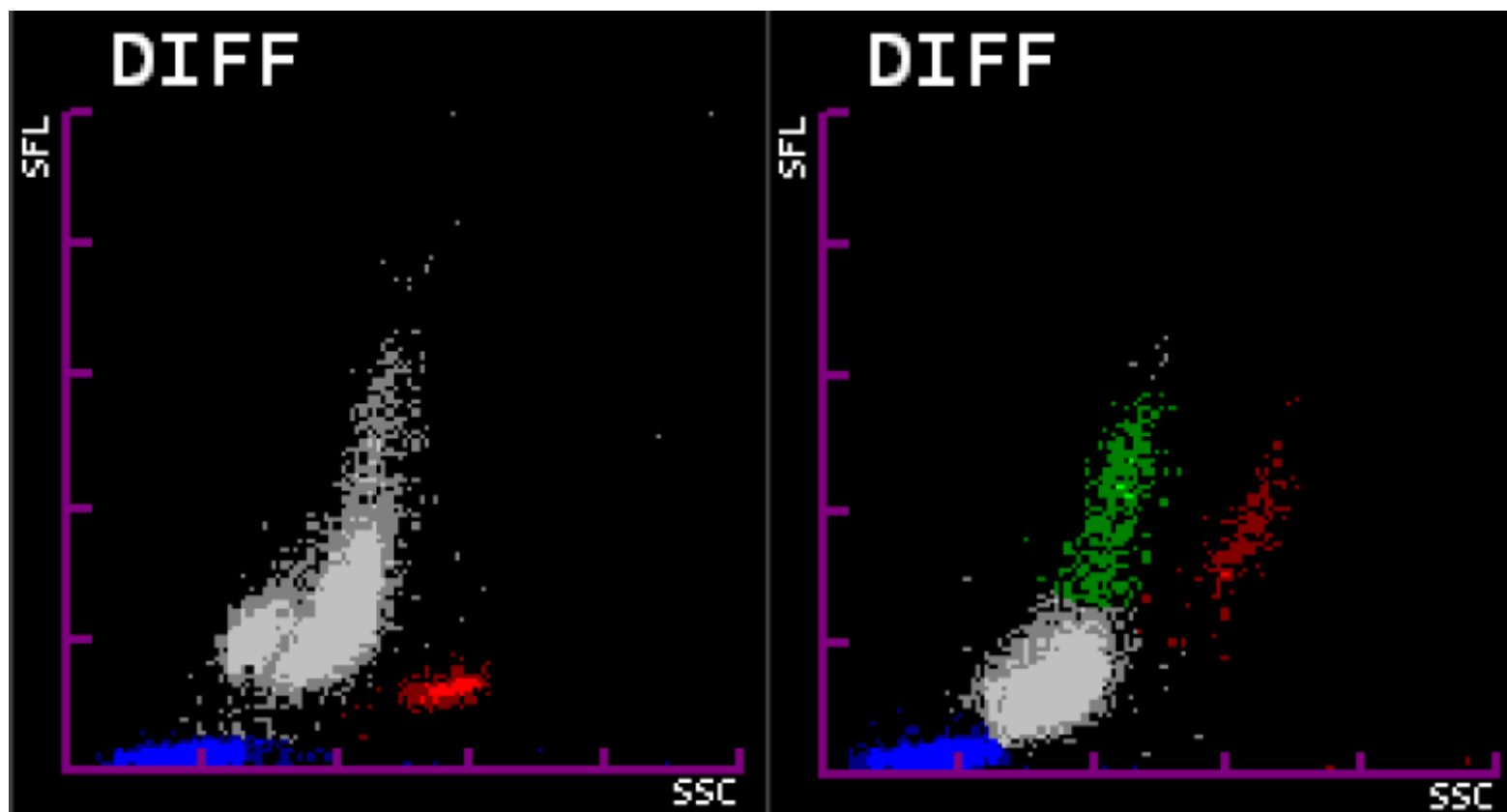
Item	Data	Unit
NEUT#	7.17	10 ⁹ /L
LYMPH#	1.82	10 ⁹ /L
MONO#	0.50	10 ⁹ /L
EO#	0.32	10 ⁹ /L
BASO#	0.00	10 ⁹ /L



Item	Data	Unit
NEUT#	----	10 ⁹ /L
LYMPH#	----	10 ⁹ /L
MONO#	----	10 ⁹ /L
EO#	0.21	10 ⁹ /L
BASO#	0.87	10 ⁹ /L

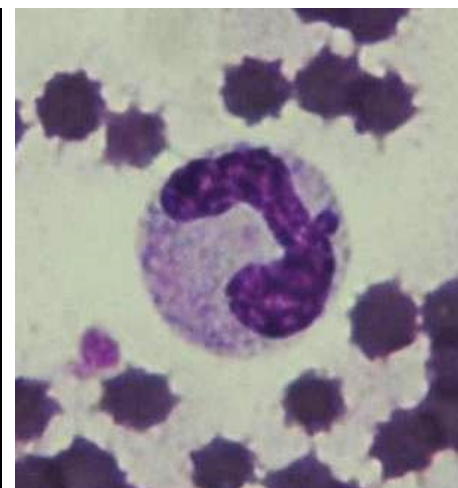
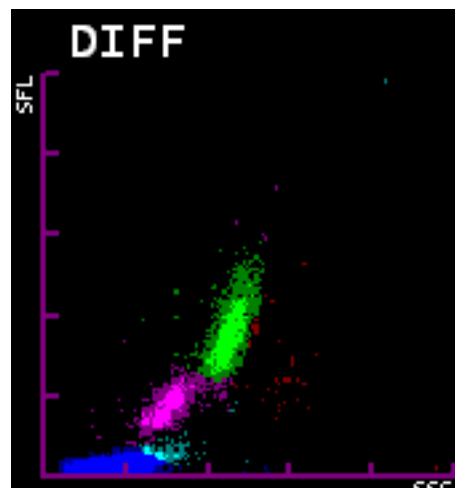


Krevní obraz: diferenciální rozpočet



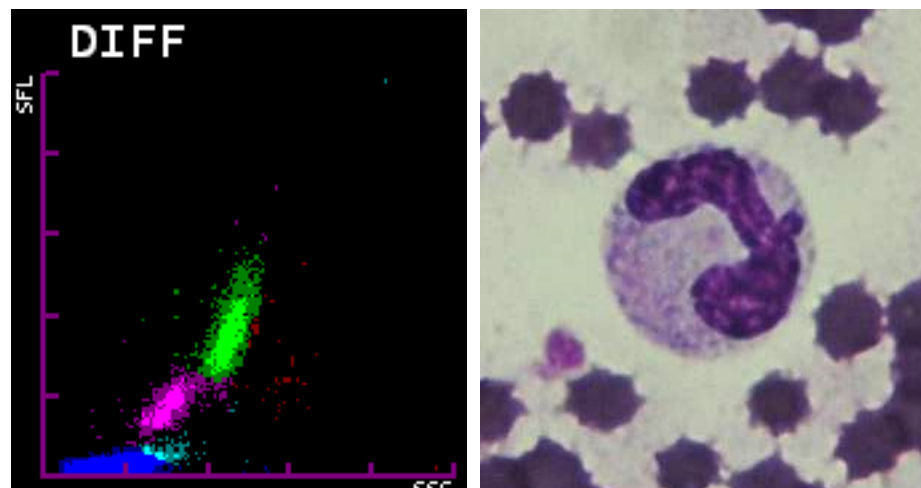
Krevní obraz: diferenciální rozpočet

	NEUT		Left shift		LYMPH		MONO	
	%	$\times 10^9/l$	%	$\times 10^9/l$	%	$\times 10^9/l$	%	$\times 10^9/l$
Sysmex	0.0	0.00	--	--	35.6	1.57	64.1	2.91

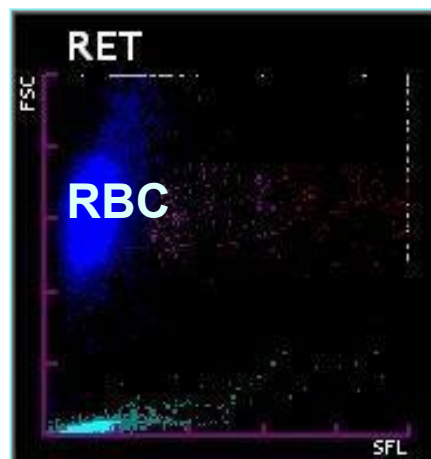


Krevní obraz: diferenciální rozpočet

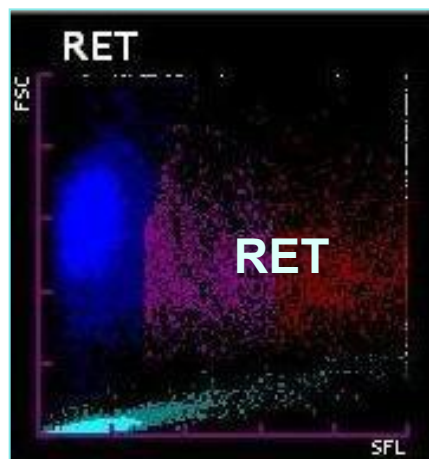
	NEUT		Left shift		LYMPH		MONO	
	%	$\times 10^9/L$	%	$\times 10^9/L$	%	$\times 10^9/L$	%	$\times 10^9/L$
Manual	24.0	1.38	12.0	0.54	71.0	3.22	4.0	0.18
Sysmex	0.0	0.00	--	--	35.6	1.57	64.1	2.91



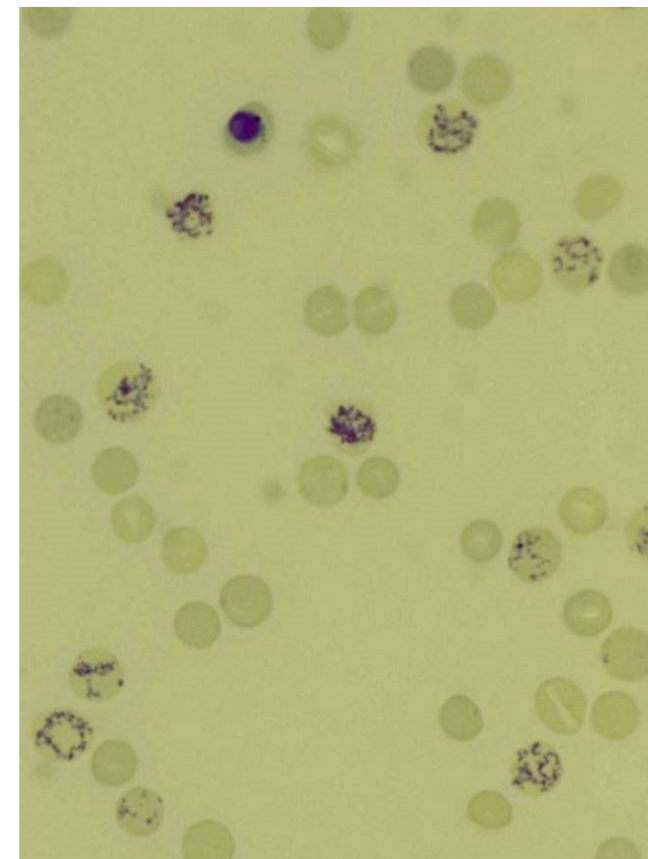
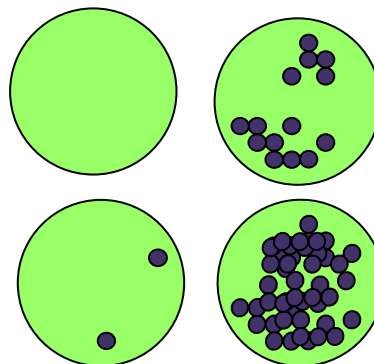
Krevní obraz: retikulocyty



RET%	0.81	%
RET#	51.4	$10^9/L$



RET%	17.86	+	%
RET#	718.0	+	$10^9/L$



Krevní obraz: základní parametry RBC

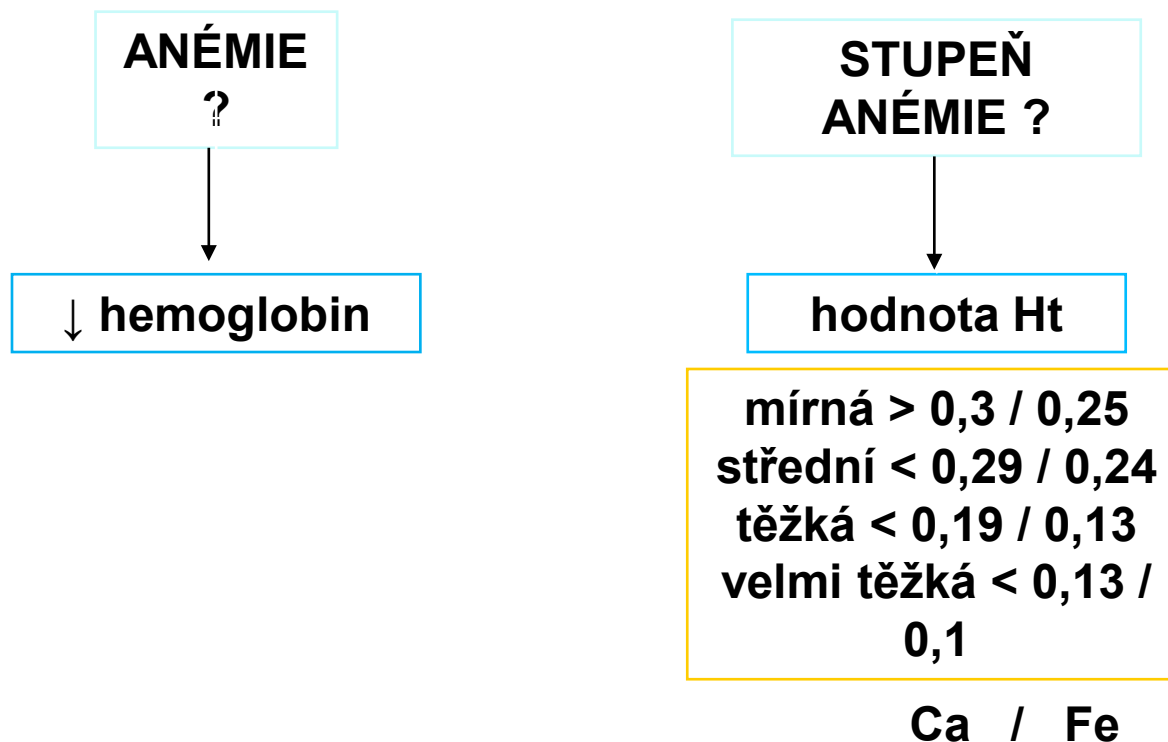
Ca

Items		
Item	Data	Unit
WBC	13.03	10 ⁹ /L
RBC	6.55	10 ¹² /L
HGB	164	g/L
HCT	0.478	L/L
MCV	73.0	fL
MCH	25.0	pg
MCHC	343	g/L
PLT	236	10 ⁹ /L
RDW-SD	33.6	fL
RDW-CV	12.7	%
PDW	13.1	fL
MPV	11.4	fL
P-LCR	36.5	%
PCT	0.0027	L/L
RET%		%
RET#		10 ⁹ /L

Fe

Items		
Item	Data	Unit
WBC	7.81	10 ⁹ /L
RBC	8.87	10 ¹² /L
HGB	121	g/L
HCT	0.388	L/L
MCV	43.7	fL
MCH	13.6	pg
MCHC	312	g/L
PLT	399	10 ⁹ /L
RDW-SD	27.5	fL
RDW-CV	20.7	%
PDW	----	fL
MPV	----	fL
P-LCR	----	%
PCT	----	L/L
RET%		%
RET#		10 ⁹ /L

Krevní obraz: základní parametry RBC



Krevní obraz: další parametry RBC

Ca

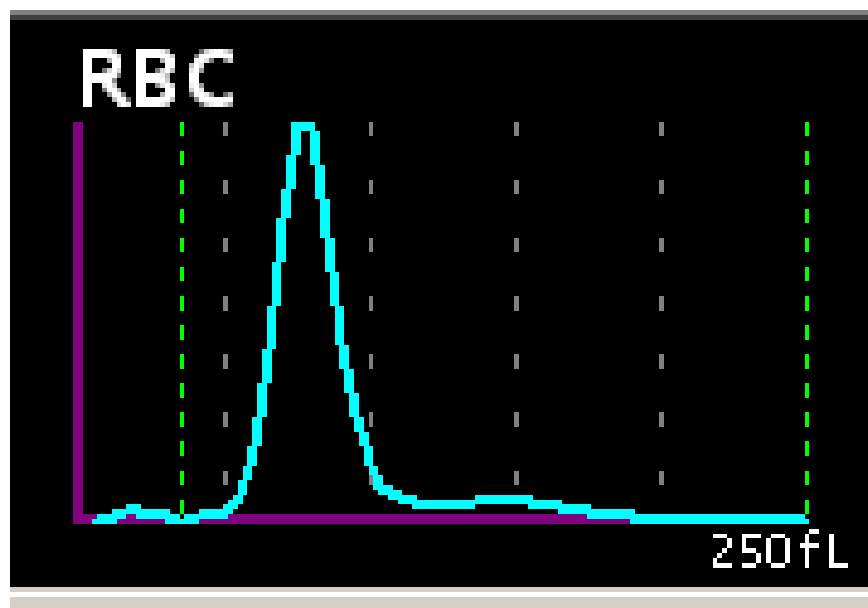
Items		
Item	Data	Unit
WBC	13.03	10 ⁹ /L
RBC	6.55	10 ¹² /L
HGB	164	g/L
HCT	0.478	L/L
MCV	73.0	fL
MCH	25.0	pg
MCHC	343	g/L
PLT	236	10 ⁹ /L
RDW-SD	33.6	fL
RDW-CV	12.7	%
PDW	13.1	fL
MPV	11.4	fL
P-LCR	36.5	%
PCT	0.0027	L/L
RET%		%
RET#		10 ⁹ /L

Fe

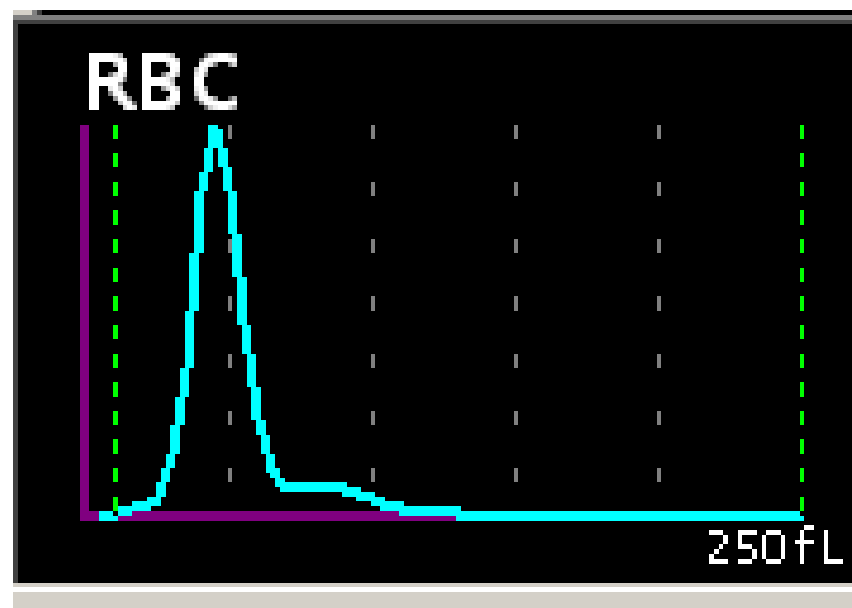
Items		
Item	Data	Unit
WBC	7.81	10 ⁹ /L
RBC	8.87	10 ¹² /L
HGB	121	g/L
HCT	0.388	L/L
MCV	43.7	fL
MCH	13.6	pg
MCHC	312	g/L
PLT	399	10 ⁹ /L
RDW-SD	27.5	fL
RDW-CV	20.7	%
PDW	----	fL
MPV	----	fL
P-LCR	----	%
PCT	----	L/L
RET%		%
RET#		10 ⁹ /L

Krevní obraz: další parametry RBC

Ca



Fe



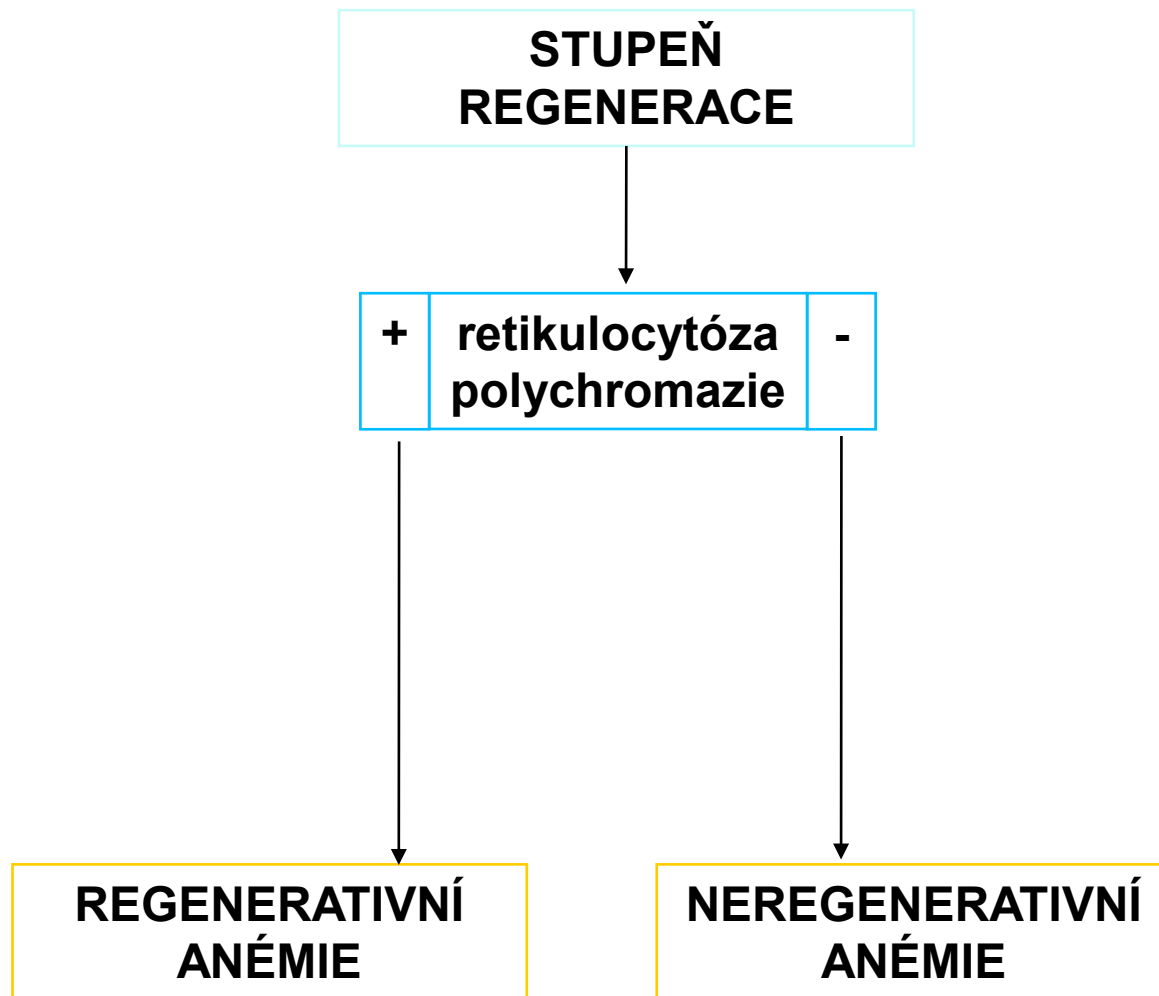
Krevní obraz: retikulocyty

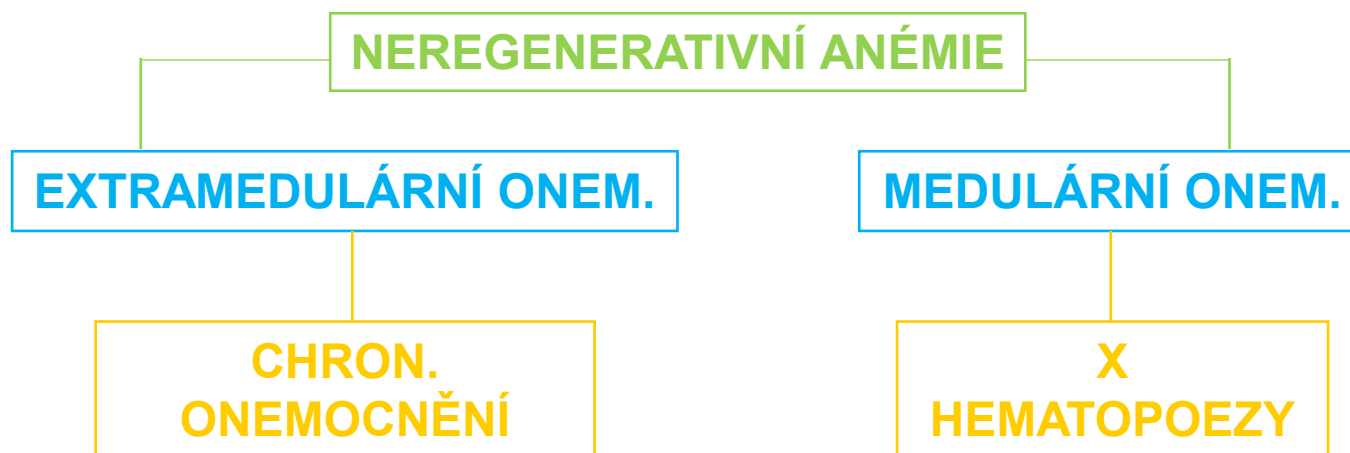
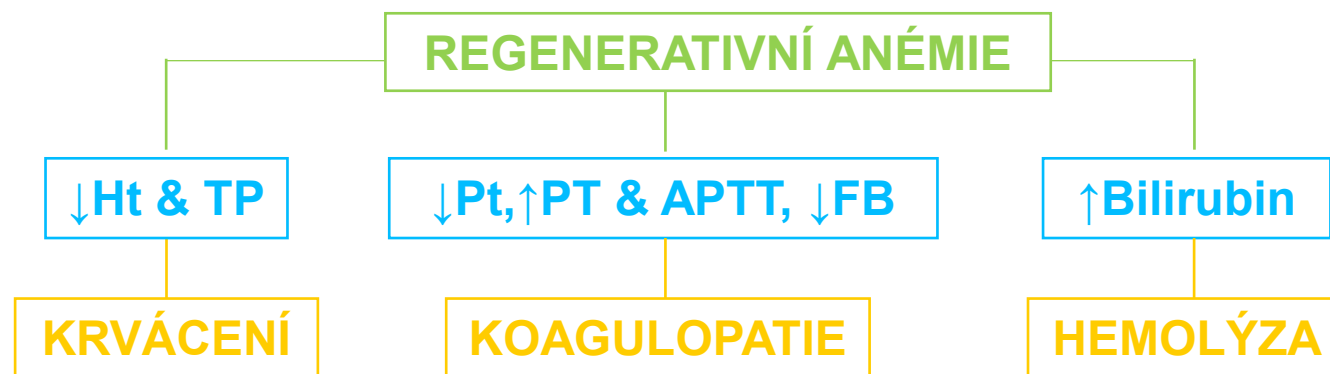
Ca

Items		
Item	Data	Unit
WBC	13.03	10 ⁹ /L
RBC	6.55	10 ¹² /L
HGB	164	g/L
HCT	0.478	L/L
MCV	73.0	fL
MCH	25.0	pg
MCHC	343	g/L
PLT	236	10 ⁹ /L
RDW-SD	33.6	fL
RDW-CV	12.7	%
PDW	13.1	fL
MPV	11.4	fL
P-LCR	36.5	%
PCT	0.0027	L/L
RET%	0,89	%
RET#	58,3	10 ⁹ /L

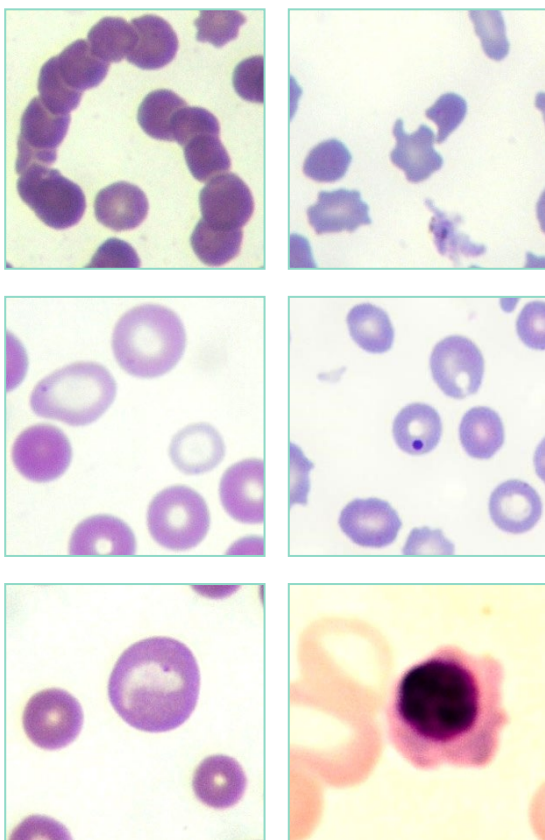
Fe

Items		
Item	Data	Unit
WBC	7.81	10 ⁹ /L
RBC	8.87	10 ¹² /L
HGB	121	g/L
HCT	0.388	L/L
MCV	43.7	fL
MCH	13.6	pg
MCHC	312	g/L
PLT	399	10 ⁹ /L
RDW-SD	27.5	fL
RDW-CV	20.7	%
PDW	----	fL
MPV	----	fL
P-LCR	----	%
PCT	----	L/L
RET%	0,34	%
RET#	30,2	10 ⁹ /L





Morfologie RBC



Systematické hodnocení RBC:

aglutinace/rouleaux

velikost

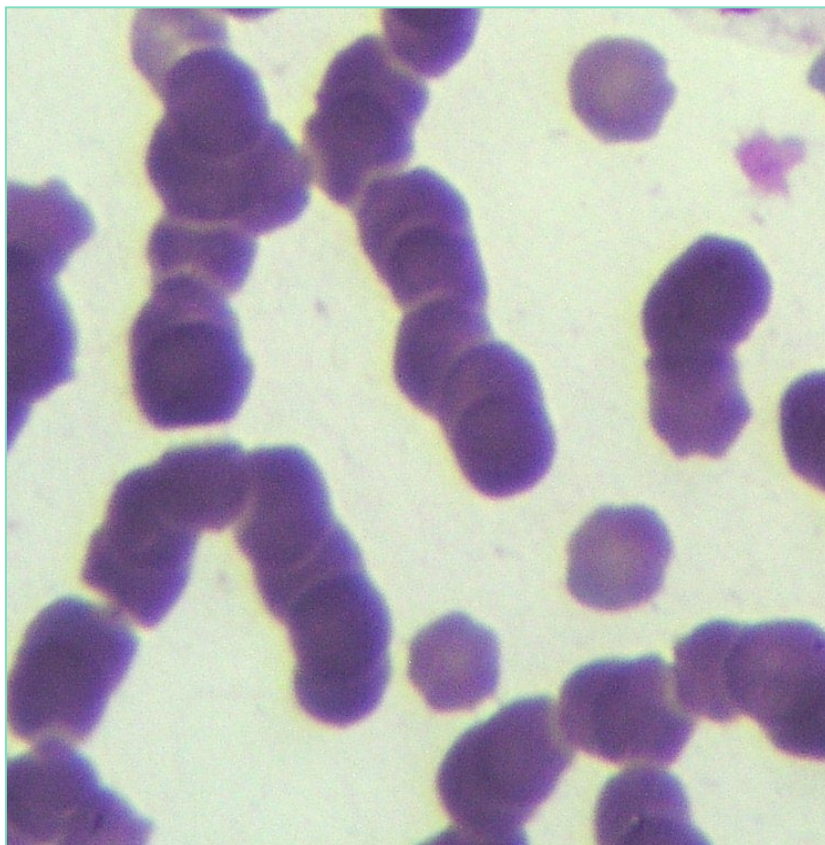
barvitelnost: hypochromie, polychromazie

tvary

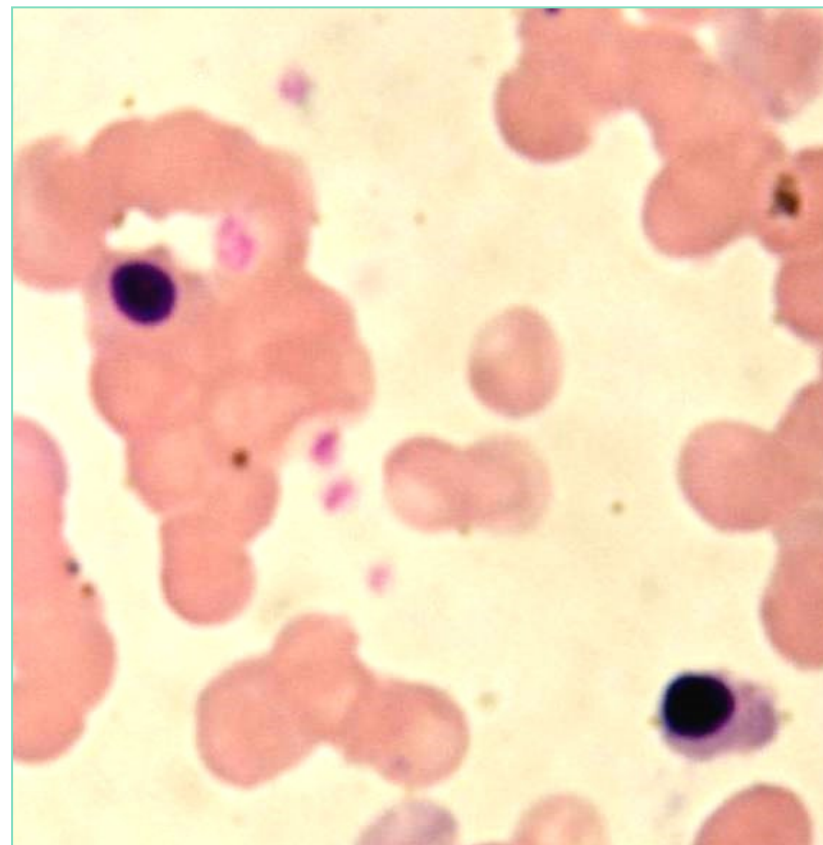
inkluze

NRBC (korekce WBC!)

Morfologie RBC

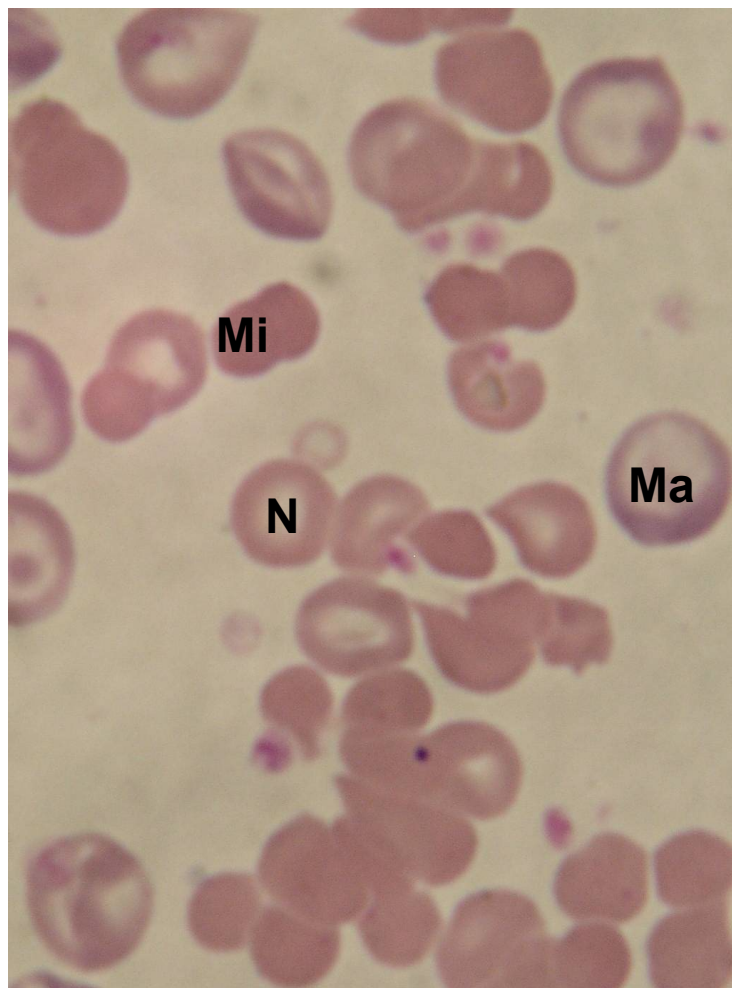


rouleaux



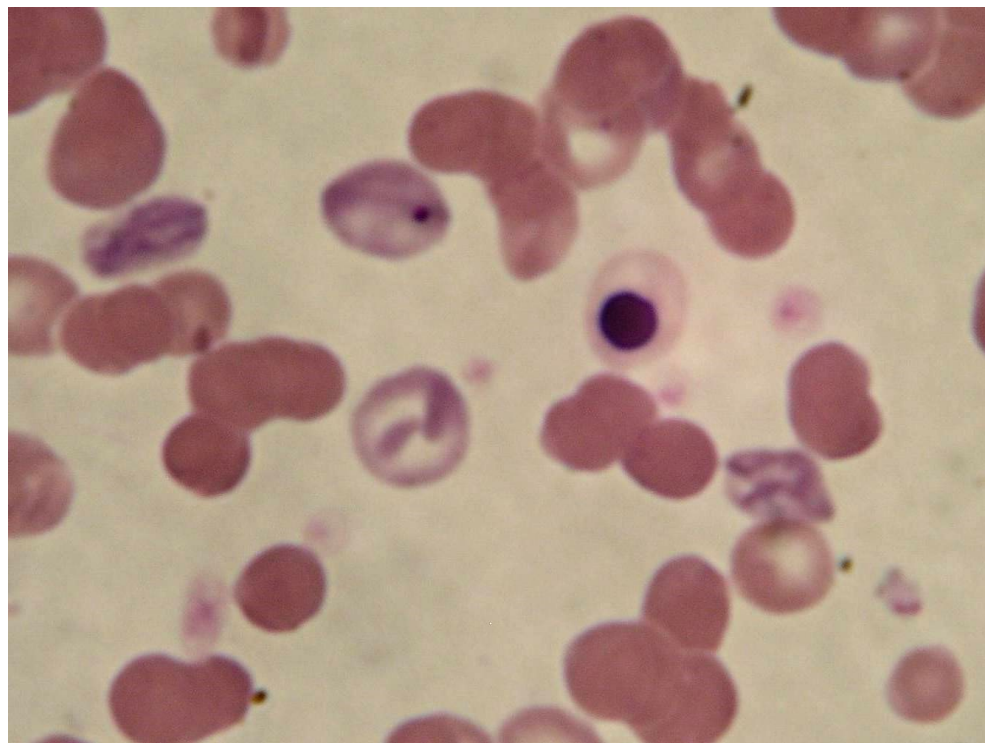
aglutinace

Morfologie RBC

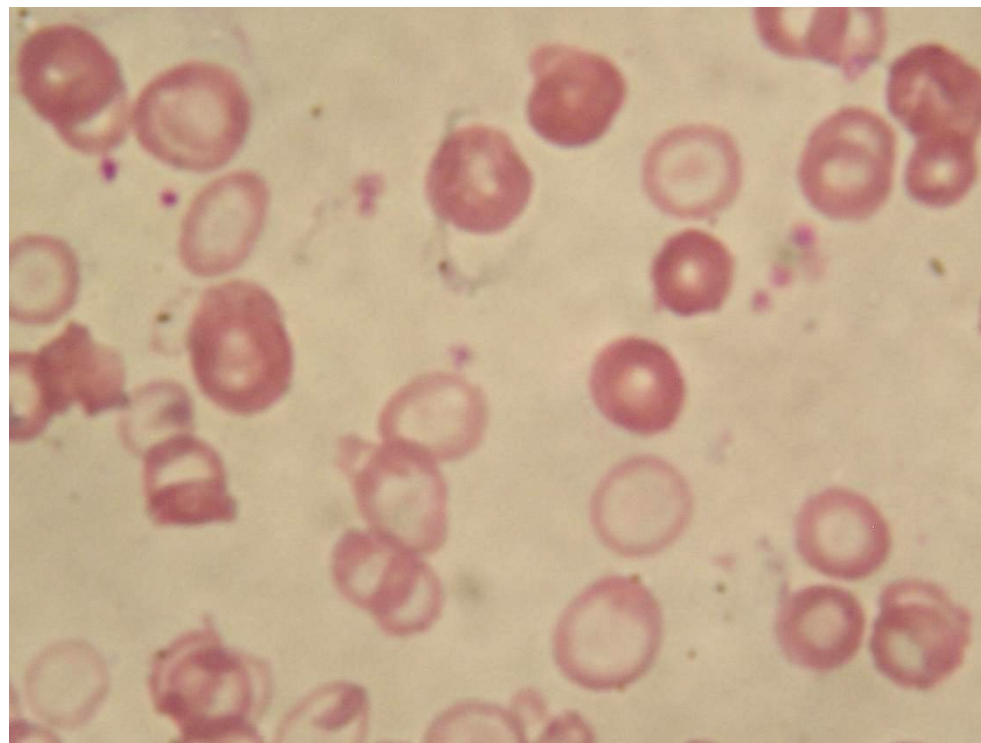


anizocytóza

Morfologie RBC



polychromazie



hypochromie

Morfologie RBC

KOREKCE WBC

je-li > 5 NRBC při hodnocení 100 WBC:

$$\text{Korig. WBC} = 100 / (\text{NRBC} + 100) \times \text{WBC}$$

Ex. WBC = $18 \times 10^9/\text{l}$, NRBC = 8

$$\text{Korig. WBC} = 100 / 108 \times 18 = 16,7 \times 10^9/\text{l}$$

Krevní obraz: základní parametry WBC

Ca

Items		
Item	Data	Unit
WBC	13.03	10 ⁹ /L
RBC	6.55	10 ¹² /L
HGB	164	g/L
HCT	0.478	L/L
MCV	73.0	fL
MCH	25.0	pg
MCHC	343	g/L
PLT	236	10 ⁹ /L
RDW-SD	33.6	fL
RDW-CV	12.7	%
PDW	13.1	fL
MPV	11.4	fL
P-LCR	36.5	%
PCT	0.0027	L/L
RET%		%
RET#		10 ⁹ /L

Fe

Items		
Item	Data	Unit
WBC	7.81	10 ⁹ /L
RBC	8.87	10 ¹² /L
HGB	121	g/L
HCT	0.388	L/L
MCV	43.7	fL
MCH	13.6	pg
MCHC	312	g/L
PLT	399	10 ⁹ /L
RDW-SD	27.5	fL
RDW-CV	20.7	%
PDW	----	fL
MPV	----	fL
P-LCR	----	%
PCT	----	L/L
RET%		%
RET#		10 ⁹ /L

Krevní obraz: základní parametry WBC

relativní zastoupení WBC x absolutní počty WBC:

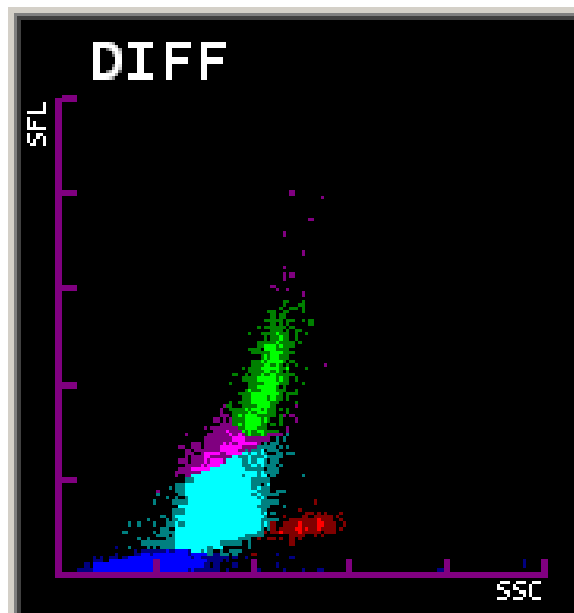
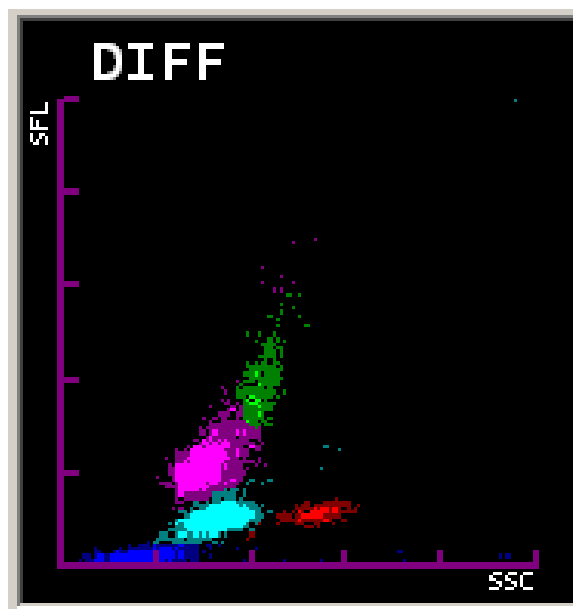
Ex. WBC = $20 \times 10^9/l$, LY = 6 %

LY = $0,06 \times 20 = 1,2 \times 10^9/l$

Ex. WBC = $2 \times 10^9/l$, LY = 60 %

LY = $0,6 \times 2 = 1,2 \times 10^9/l$

Krevní obraz: diferenciální rozpočet



Ca

Item	Data	Unit
NEUT%	87.3	%
LYMPH%	3.4	%
MONO%	7.6	%
EO%	1.2	%
BASO%	0.5	%



tyčky: průměr konstriktce nesmí být < než 1/2 nejširšího průměru jádra

Tyčky 15 %, Seg 71 %

Ly 5 %

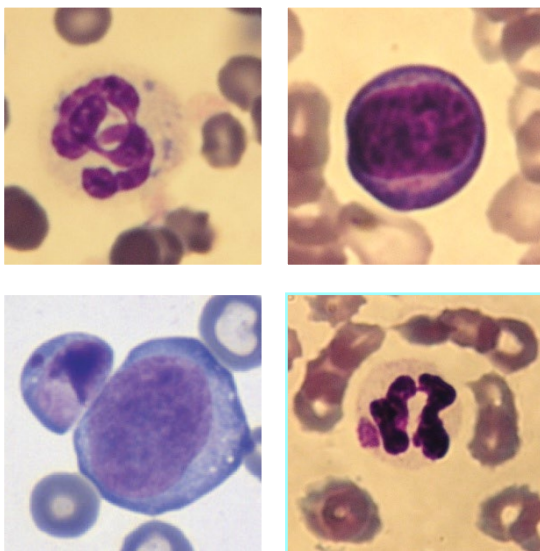
Mo 7 %

Eos 2 %

Bas 0 %



Morfologie WBC



Systematické hodnocení WBC:

diferenciál na 100 WBC

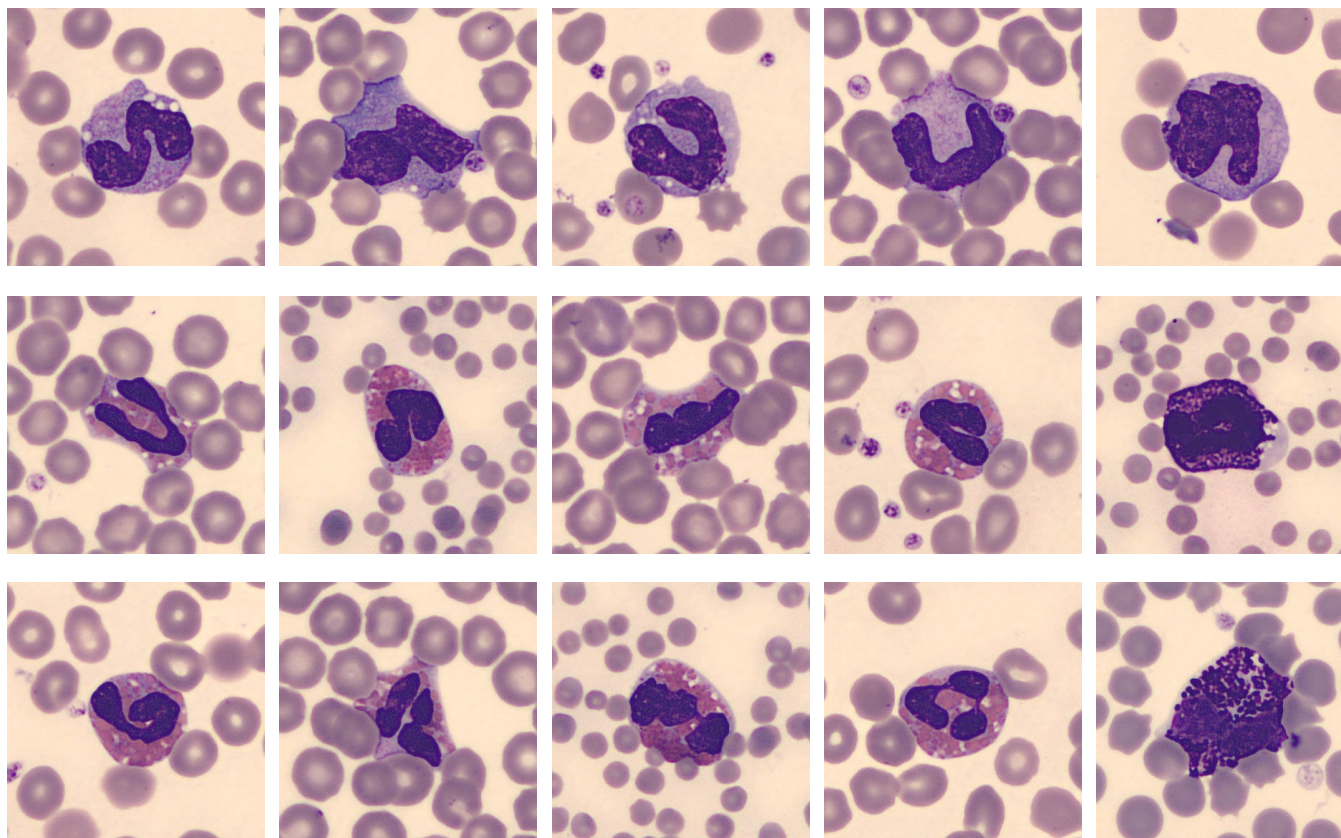
toxické změny NEU

reaktivní LY

atypické bb.

inkluze

HEMATOLOGICKÝ PROFIL



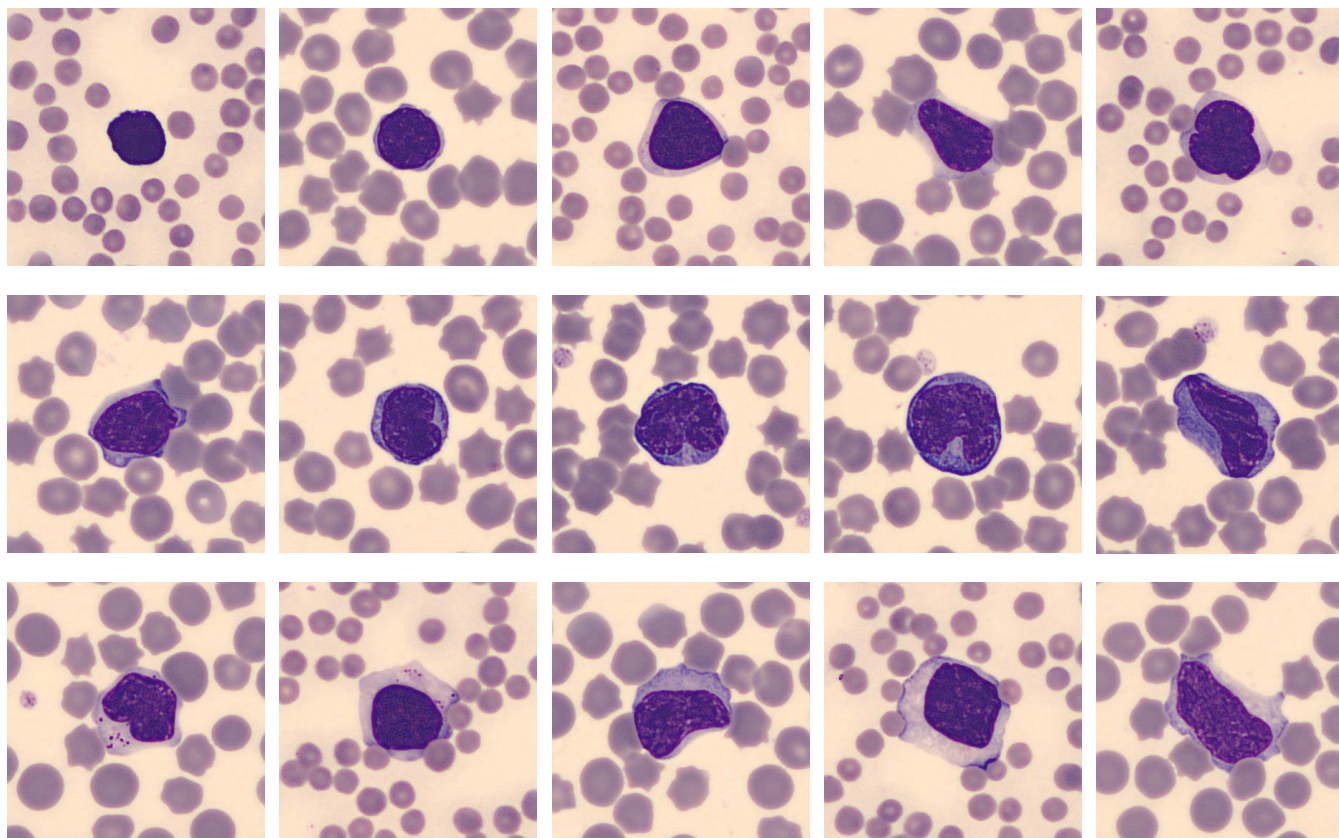
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

HEMATOLOGICKÝ PROFIL



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

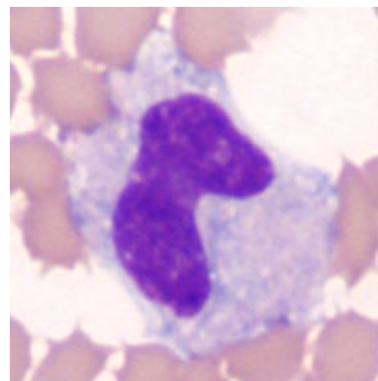


Národní
plán
obnovy

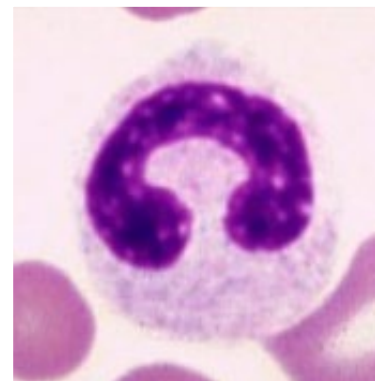
Morfologie WBC

TOXICKÉ ZMĚNY NEU:

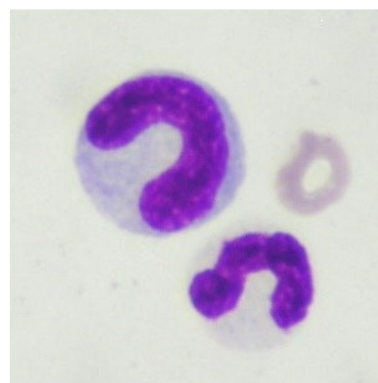
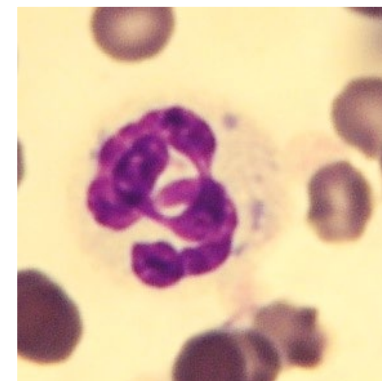
bazofilie &
vakuolizace



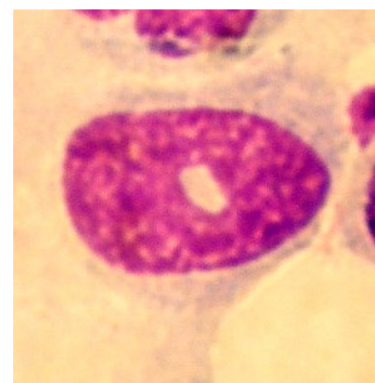
tox. granulace



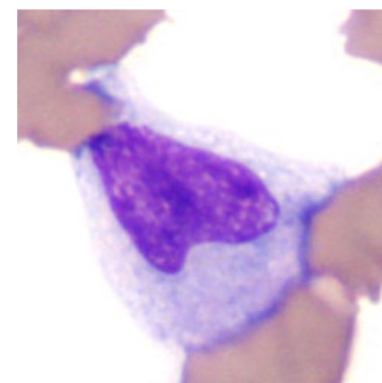
Döhleho inkluze



gigantické
formy



prstenčitá jádra

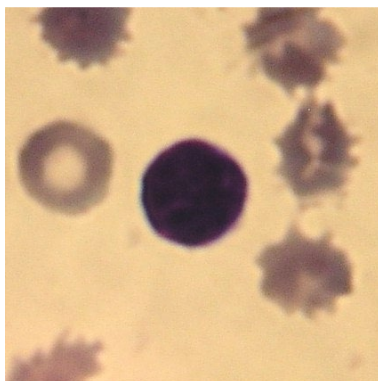


obtížná
diferenciace

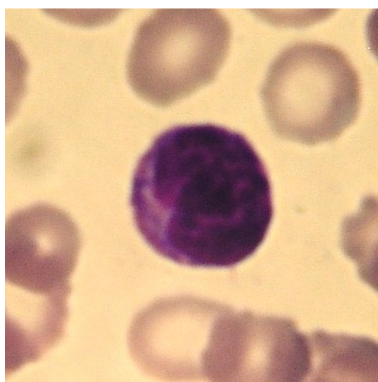
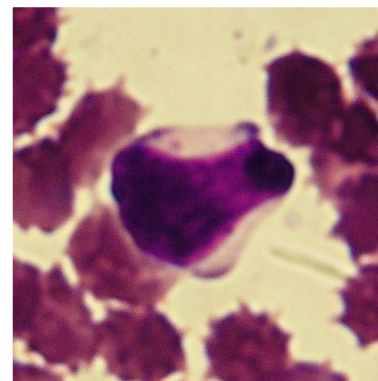
Morfologie WBC

REAKTIVNÍ LY:

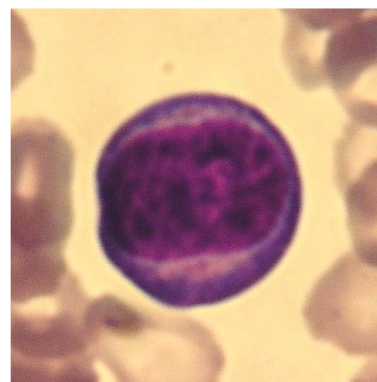
malý lymfocyt



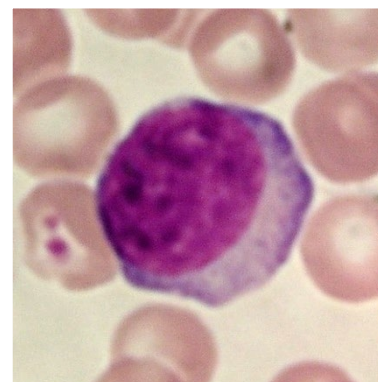
střední lymfocyt



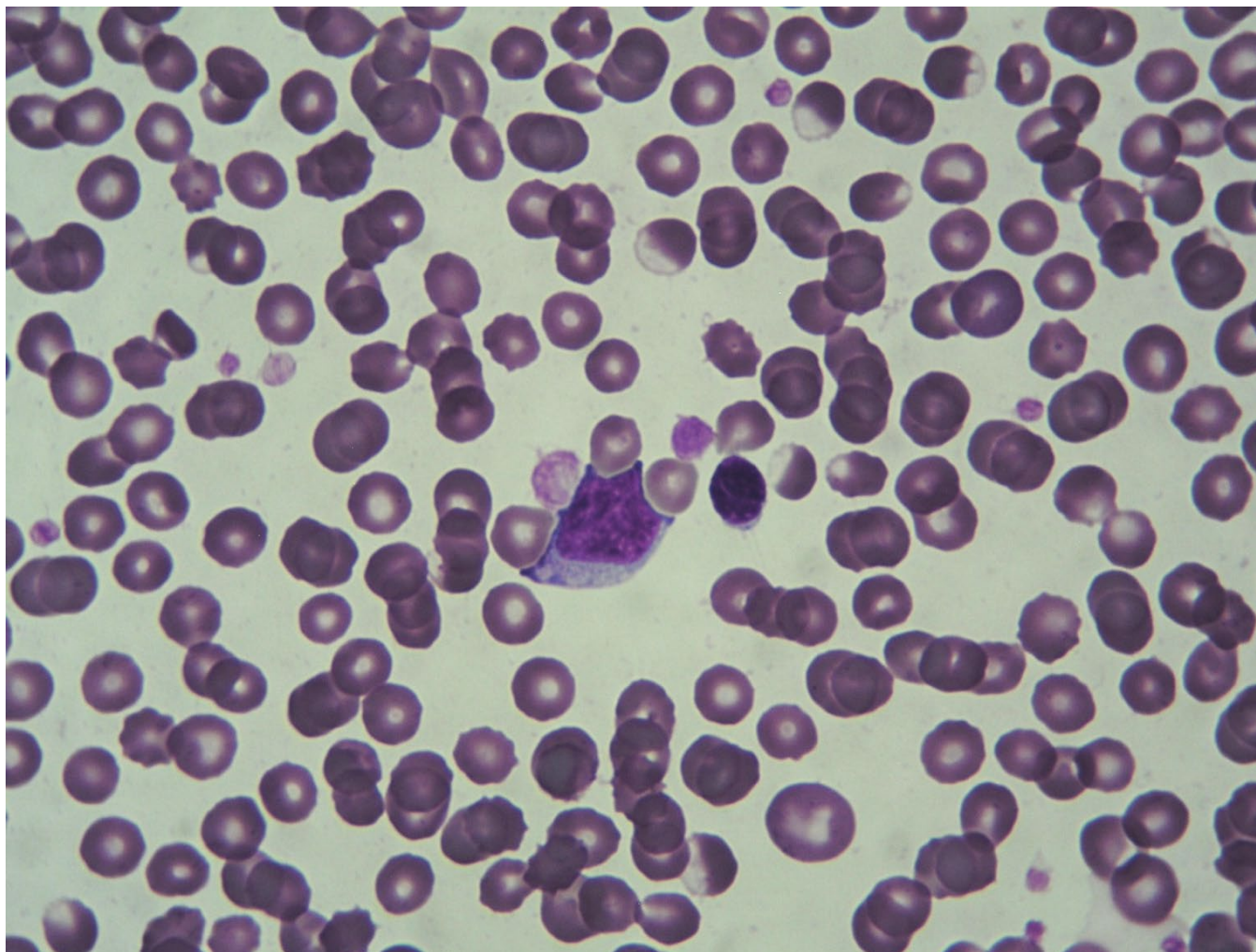
reaktivní
lymfocyt



blasticky transformovaný lymfocyt



HEMATOLOGICKÝ PROFIL



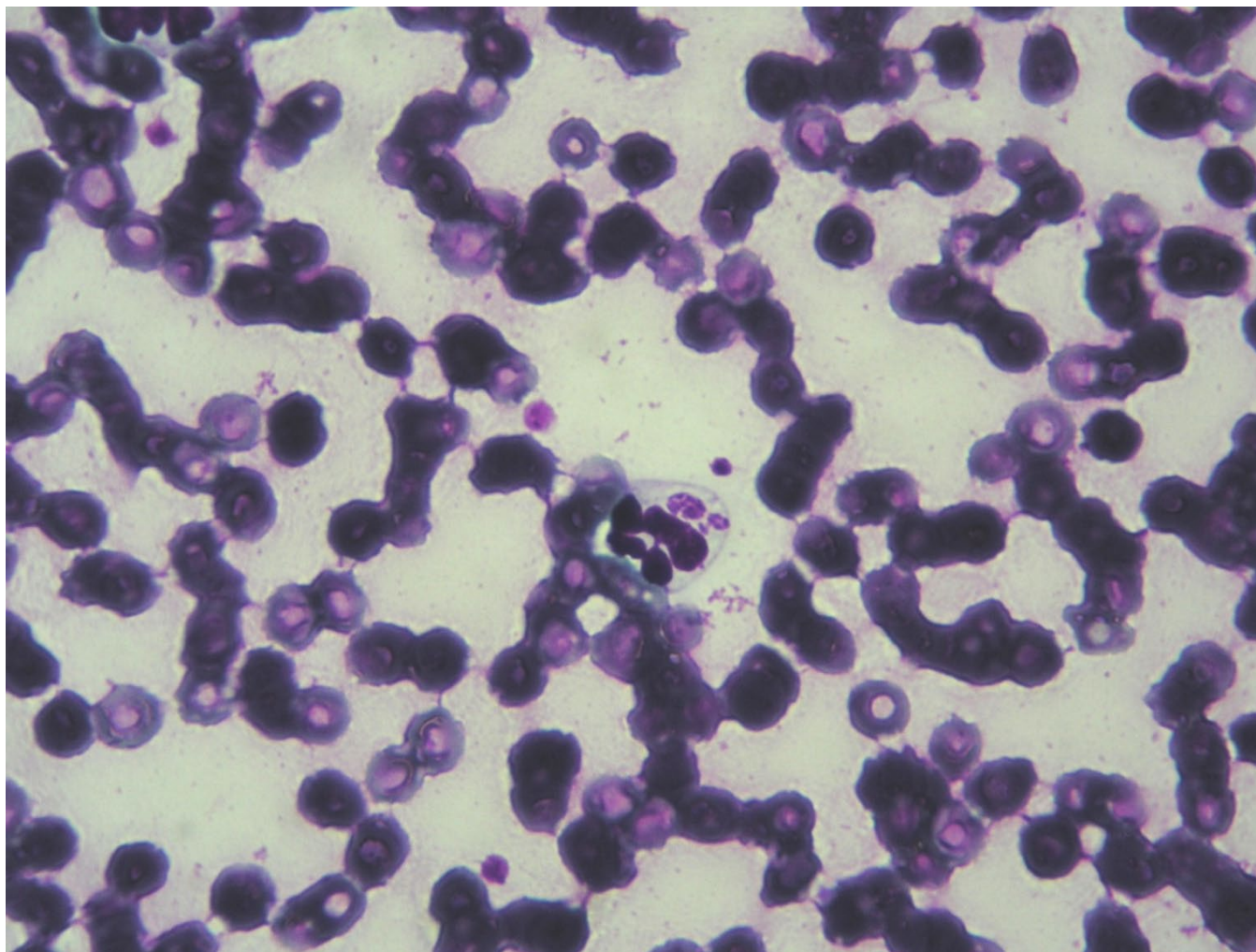
Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

HEMATOLOGICKÝ PROFIL



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



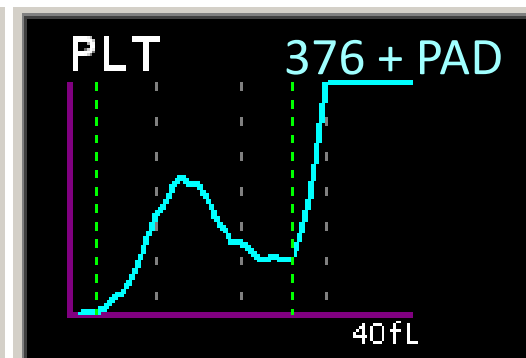
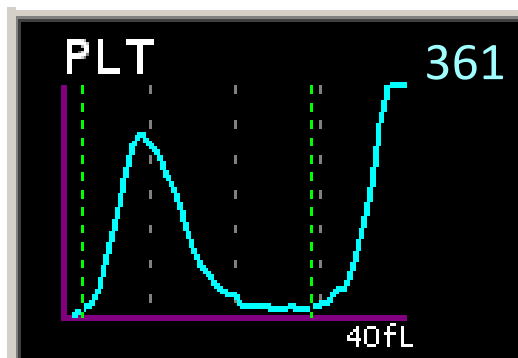
Národní
plán
obnovy

Morfologie PLT

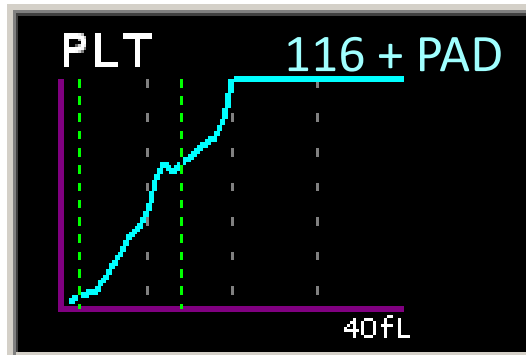
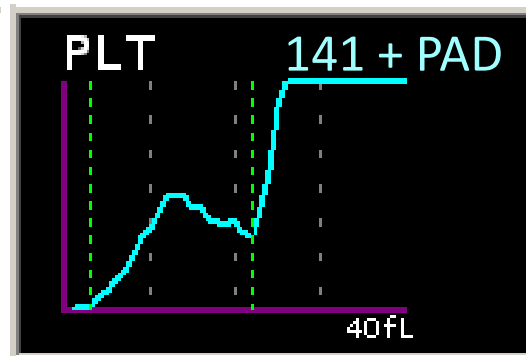
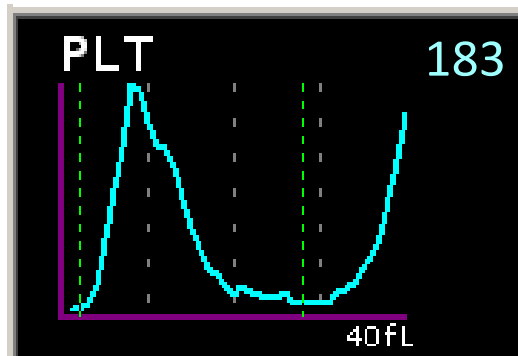
Systematické hodnocení PLT:
shluky
odhadovaný počet
(průměrný počet v 10 ZP x 15)
makrotrombocyty

Morfologie PLT

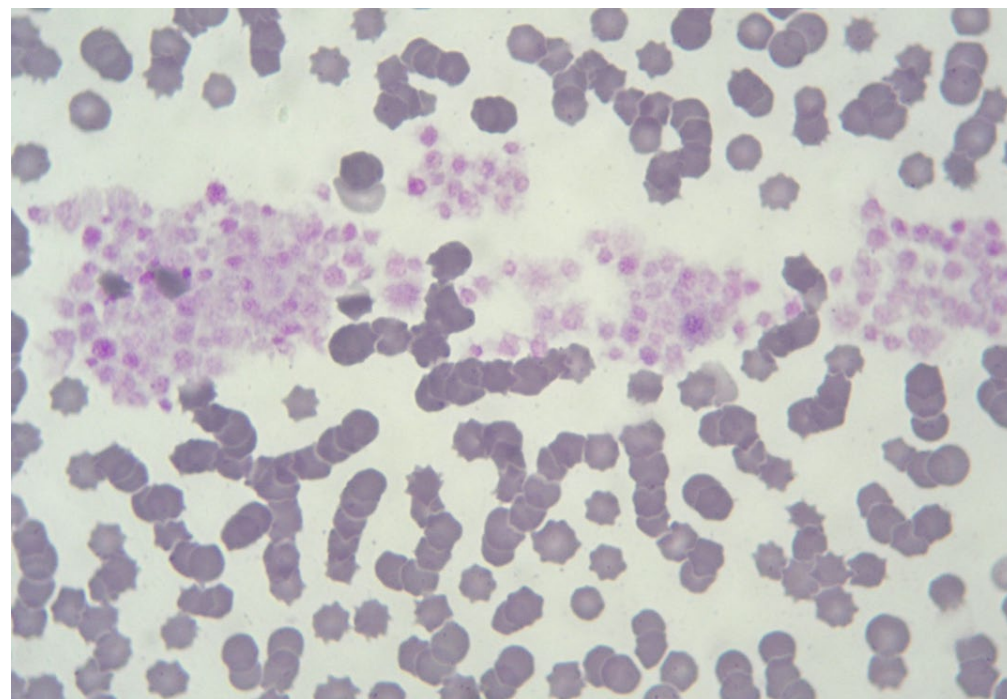
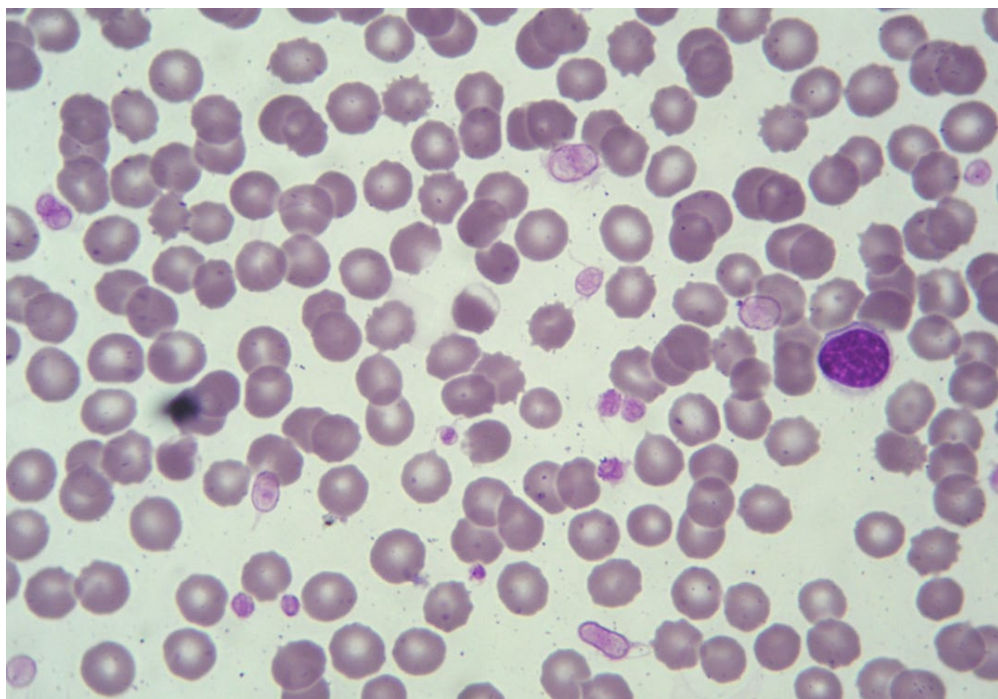
Ca



Fe



Morfologie PLT





Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků

MVDr. Ivana Váňová, Ph.D.

Klinická laboratoř pro malá zvířata

VETUNI Brno

vanovai@vfu.cz



Zvýšení:

Hyper + emie

Hyperproteinemie

Hyperalbuminemie

Hypercholesterolemie

Hypertriacylglycerolemie

Hyperbilirubinemie

Hyperamonemie

Hyperglykemie

Hypernatremie

Hyperkalemie

Hypermagnezemie

Hyperkalcemie

Hyperfosfatemie

„Zvýšení aktivity“ ALT, AST, ALP, GGT, CK, LDH

Zvýšení hladiny/koncentrace urey(močoviny)/kreatininu – pokud jsou zvedlé oba, tj. urea i kreatinin = azotemie

Snížení

Dtto: Hypo + emie

Bi, amoniak, enzymy většinou nemají spodní ref. Rozmezí – nemohou být HYPO

Snížení hladiny/koncentrace močoviny(urey)/kreatininu

RUTINNÍ BIOCHEMIE

JÁTRA

Strukturální:

Jaterní enzymy: hepatocelulárního poškození nebo cholestatické

Hepatocel: ALT, AST

Cholest: ALP, GGT

Funkční = **ukazatele selhání jater**

Syntetizující: alb, chol, bi

Exkreční/eliminační: žlučové kyseliny, amoniak

Při poškození jater:

Stoupají enzymy (alt, ast, alp, ggt)

Stoupá bilirubin (nejsou schopna metabolizovat)

Klesá alb, chol (nesyntetizují se)

Stoupá amoniak, ŽK (nedetoxikují se)

Alkalická fosfatáza:

Cholestatický enzym, ale je tvořena i v kostech, placentě, ledvinách, střevě

U **psů** je tvořena i při nadbytku kortikoidů (kortikoidy-indukovanou ALP)

RUTINNÍ BIOCHEMIE

METABOLIZMUS

Proteinů: TP, ALB

TP se skládá z: ALB, globulinů

Globuliny se skládají z: alfa, beta a gama frakce (např. proteiny akutní fáze, protilátky)

Albumin tvoří největší část proteinů, se syntetizuje z proteinů přijatých v potravě

Snížený albumin: snížený příjem, ztráta (střevem, ledvinami, kůží), snížená syntéza při zánětu

Globuliny jsou zvýšeny při zánětu

Cukrů: glu/glc

Snížení: snížený příjem,

Zvýšený: endokrinologické onemocnění (*diabetes mellitus*)

Tuků: chol, TAG

Zvýšení: nakrmení, endokrino. Onem.

Snížení: sníženém příjmu

RUTINNÍ BIOCHEMIE

SVALOVÝ PROFIL

Strukturální ukazatele: CK, AST, LDH

LDH je **nespecifický enzym, je ve všech tkáních (buňkách)**

RUTINNÍ BIOCHEMIE

LEDVINY

Urea, crea

Při poškození ledvin jsou **zvýšené**



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

RUTINNÍ BIOCHEMIE

ELEKTROLYTY A MINERÁLY

Sodík a chloridy

Odrážejí hospodaření s vodou

Dehydratace: stoupají

Draslík

Svalová akce

Zvýšení: poruchy vylučování – riziko zástavy srdce

Snížení: snížený příjem, ztráty – svalová slabost

RUTINNÍ BIOCHEMIE

ELEKTROLYTY A MINERÁLY

Hořčík

Svalová akce

Snížení: sníženého příjmu

Vápník

Regulovaný hormony (kostní mtb), přijímán z potravy

Zvýšený: endokrino., **nádory** (produkují hormony podobné normálním hormonům, PTH-rp)

Fosfor:

Regulován hormony, přijímán z potravy

Zvýšený: postižené ledviny, endokrinopatie

RUTINNÍ BIOCHEMIE

PANKREAS

Strukturální: amyláza (AMYL), lipáza (LIPA), „specifické pankreatické lipázy“ (PLI)

Funkční: TLI (trypsin-like immunoreactivity)

Poškození tkáně pankreasu (pankreatitis): vše stoupá (amyl, lipa, PLI, TLI)

Nefunkční pankreas: klesá TLI

SPECIÁLNÍ BIOCHEMIE

Zánět: proteiny akutní fáze (např. CRP u psa, SAA u kočky)

Onemocnění ledvin: cystatin C, SDMA

Endokrinní onemocnění:

- Štítná žlázy (např. tyroxin)

- Nadledviny (např. různé hormony nadledvin)

- Inzulin

- Růstové hormony

- Pohlavní hormony (zjistit, zda je zvíře kastrováno)

Nádorové markery (např. thymidinkináza)

Imunitní onemocnění

- Systémové (např. ANA test)

- Pohybové (např. revmatoidní faktor)

- Svalové (např. protilátky proti acetylcholinovému receptoru)

SPECIÁLNÍ BIOCHEMIE

Jiné

Např. vitamíny

Např. toxikologie

Behaviorální potíže (např. serotonin)

Kardiomarkery (např. troponin, natriuretické peptidy)



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

FUNKČNÍ TESTY

Hodnotí funkci nějakého orgánu

Např.

Dynamický test žlučových kyselin

Podezření na poruchu jater

Odebere se krev nalačno

Nakrmí se

Odebere se krev 2 hodiny po nakrmení

Zdravé zvíře nemá zvýšené ŽK

Zvíře se selháním jater má zvýšené ŽK

ACTH stimulační test

Mnoho indikací, např. diagnóza nedostatečnosti nadledvin

Odeberu krev na měření kortizolu

Aplikuje se ACTH hormon

Za hodinu se odebere krev na měření kortizolu

Zdravé zvíře: ACTH stimuluje vyloučení kortizolu, tj. kortizol po stimulaci se zvýší

Nemocné zvíře: nadledviny na ACTH nereagují, kortizol se nezvýší



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU



Národní
plán
obnovy

Odběr a laboratorní vyšetřování vzorků

MVDr. Kristína Řeháková, Ph.D.

Klinická laboratoř pro malá zvířata

VETUNI Brno

rehakovak@vfu.cz



Analýza moči

Analýza efuzí



Financováno
Evropskou unií
NextGenerationEU

MŠMT
MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Národní
plán
obnovy

Analýza moči:

**ranní vzorek (střední proud)
čistá (sterilní) odběrovka**

**spontánní mikce
manuální komprese moč. měchýře
cystocentéza (sterilní odběr z MM)**

analýza ideálně do 30 min (12 h při 4-8°C)

Analýza moči:

- 1) makroskopické posouzení
- 2) mikrobiologická analýza (uricult test, kultivace)
- 3) analýza dg. papírkem

Centrifugace

- 4) biochemická analýza (supernatant)
- 5) mikroskopická analýza (sediment: komůrka, roztěr)

Analýza moči:

1) makroskopické posouzení

barva

zákal (bb., krystaly, hlen, tuk. kapénky, sperma)

příměsi

zápach

Analýza moči:

2) mikrobiologická analýza

Uricult test (oboustranný agar s odlišným médiem)

ponoření na několik vteřin

inkubace 24 – 48 h (37°C)

Analýza moči:

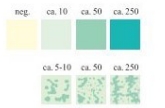
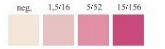
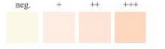
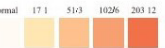
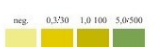
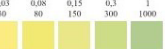
3) analýza
dg. papírkem
pH
bílkoviny
glukóza
ketolátky
urobilinogen
(bilirubin)
krev (Hb, RBC)

Vizuální proužky PHAN®																
Produkt	Kat. č.	Materiál	Proužky /tuba	SG	NIT	pH	ASCO	PRO	GLU	KET	UBG	BIL	LEU	BLD	MA	CRE
AlbuPHAN	URPH0001	10003311	50			●		●								
GlukoPHAN	URPH0002	10003351	50						●							
HemoPHAN	URPH0003	10003312	50											●		
KetoPHAN	URPH0004	10003313	50							●						
DiaPHAN	URPH0005	10003316	50						●	●						
IktoPHAN	URPH0006	10003315	50								●	●				
TriPHAN	URPH0007	10003320	50			●		●	●							
TriPHAN	URPH0008	10010228	100			●		●	●							
TetraPHAN dia	URPH0009	10003331	50			●		●	●	●						
PentaPHAN	URPH0010	10003322	50			●		●	●	●				●		
HexaPHAN	URPH0011	10003318	50			●		●	●	●	●			●		
HexaPHAN	URPH0012	10007382	100			●		●	●	●	●			●		
HeptaPHAN	URPH0013	10003317	50			●		●	●	●	●	●		●		
HeptaPHAN	URPH0014	10007383	100			●		●	●	●	●	●		●		
NonaPHAN SG	URPH0015	10003349	50	●	●	●		●	●	●	●	●		●		
NefroPHAN Leuco	URPH0016	10003352	50		●	●		●					●	●		
DekaPHAN Leuco	URPH0017	10003350	50	●	●	●		●	●	●	●	●	●	●		
DekaPHAN Leuco	URPH0018	10007386	100	●	●	●		●	●	●	●	●	●	●		
UndekaPHAN	URPH0019	10003354	50	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●		
MicroalbuPHAN	URPH0020	10010244	50												●	●

Analýza moči:

3) analýza dg. papírkem



Reakční zóny	Zkratka	Jednotky	Čas vyhodnocení	Barevná stupnice	Princip reakce	Citlivost		Specifická reakce	Interference	
						SI	Conv.		Kys. askorbová	Ostatní
Hemoglobin	HEMO	Ery/μl	ca 60 s		oxidace chromogenu organickým peroxidem v přítomnosti hemoglobinu	5 Ery/μl		specifická pro hemoglobin a myoglobin	Všechny zóny jsou chráněny proti běžným koncentracím kyseliny askorbové	extrémně vysoká SG
Erytrocyty										
Ketony	KETO	mmol/l mg/dl	ca 60 s		alkalický pufr s nitroprusidem sodným (Legalova reakce)	0,1 - 0,2 mmol/l	1,0 - 2,0 mg/dl	vysoká pro kys. acetocetovou, nízká pro aceton, žádná pro kyselinu hydroxymáselnou		látky na bázi fenolftaleinu nebo sulfoftaleinu
Bilirubin	BILI	arb.j.	ca 60 s		reakce s diazoniou soli v kyselém prostředí	4,3 - 5,2 μmol/l	0,25 - 0,30 mg/dl	specifická pro konjugovaný bilirubin		vysoké koncentrace UBG a světlo
Urobilinogen	UBG	μmol/l mg/dl	ca 60 s		reakce s diazoniou soli v kyselém prostředí	6,0 μmol/l	0,35 mg/dl	specifická pro urobilinogen a sterkobilinogen		fenazopyridin, bilirubin a světlo
Glukóza	GLU	mmol/l mg/dl	ca 60 s		enzymatická reakce - glukosidasa, peroxidasa, chromogen	0,9 mmol/l	16 mg/dl	specifická pro D-glukózu		zbytky čistících prostředků na bázi peroxidů a oxidačních látek
Bilkoviny	PRO	g/l mg/dl	ca 60 s		proteinová chyba indikátoru - změna zbarvení směsného acidobazického indikátoru v přítomnosti proteinů	0,15 g/l	15 mg/dl	specifická pro albumin		léky na bázi chininu a chinolinu, alkalické moči s pH > 8, zbytky čistících prostředků a desinfekcí na bázi kvarterních amoniových solí a moče s vysokou tlumivou kapacitou
pH	pH		ca 60 s		směsný acidobazický indikátor					cizorodé látky na kyselé i alkalické bázi, stará moč s pH cca 9
Dusitany	NITRI		ca 60 s		modifikovaná Griessova reakce	11 mmol/l	0,05 mg/dl	specifická pro dusitany - (70 % bakteriurii)	diuréza a fenazopyridin	
Kyselina askorbová	ASCO	mmol/l mg/dl	ca 60 s		redukce kyseliny fosfomolybdenové na molybdenovou moď	0,2 - 0,3 mmol/l	3,0 - 5,0 mg/dl	nespecifická redoxní reakce	redukující látky přítomné v moči	
Specifická hmotnost	SG		ca 60 s		barevná změna acidobazického indikátoru v závislosti na iontové výměně				pH > 6,5	
Leukocyty	LEU	Leu/μl	ca 120 s		enzymatická reakce - esteráza štěpí substrát na volný indoxyl, který dále reaguje s diazoniou soli	10 Leu/μl		specifická pro granulocyty a histiocyty	intenzitu vybarvení zvyšuje alkalické pH, vyšší SG a vysoké koncentrace bilirubinu	
Mikroalbumin	MICROALB	g/l mg/l	ca 60 s		proteinová chyba indikátoru - změna zbarvení acidobazického indikátoru v přítomnosti albuminu	0,03 g/l	30 mg/l	specifická pro albumin	léky na bázi chininu a chinolinu, alkalické moči s pH > 8, zbytky čistících prostředků a desinfekcí na bázi kvarterních amoniových solí a moče s vysokou tlumivou kapacitou, vysoké koncentrace kreatininu (>26,5 mmol/l)	
Kreatinin	CREA	mmol/l g/l	ca 60 s		Benedict-Behreova reakce	0,4 mmol/l	0,04 g/l	specifická pro kreatinin	moče s extrémní tlumivou kapacitou snižují intenzitu reakce, vysoké koncentrace kys. acetocetové (>50 mmol/l)	

Analýza moči:

Centrifugace

cca 400 g (cca 1500 ot/min), 3-5 min

Analýza moči:

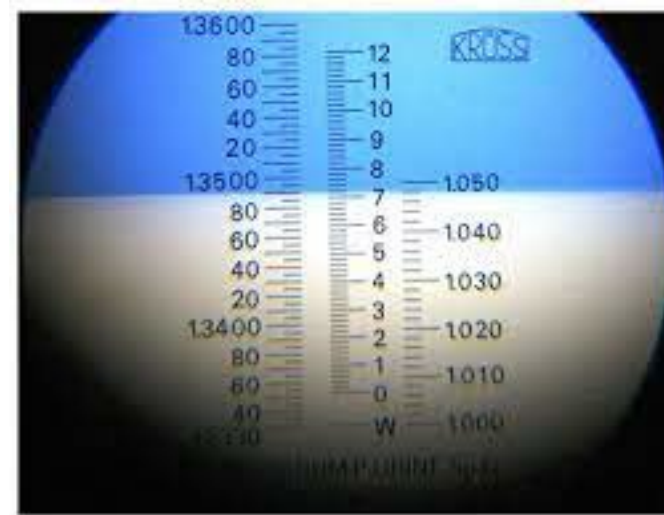
4) biochemická analýza

specifická hmotnost (hustota)
celková bílkovina, kreatinin (Up:Uc)

Analýza moči:

4) biochemická analýza

specifická hmotnost (hustota)



Species	Possible range	Usual range	"Adequate"	"Inadequate"
Canine	1.001-1.065	1.015-1.045	>1.030	< 1.030
Feline	1.001-1.085	1.035-1.060	>1.040	< 1.040
Large Animals	1.001-1.050	1.015-1.030	>1.025	< 1.025

Analýza moči:

4) biochemická analýza

celková bílkovina, kreatinin (Up:Uc)

$$\text{Up:Uc} = \text{Up (v mg/l / 10)} : \text{Uc (mmol/l x 11,3)}$$

$$\text{Up} = 2000 \text{ mg/l, Uc} = 4 \text{ mmol/l}$$

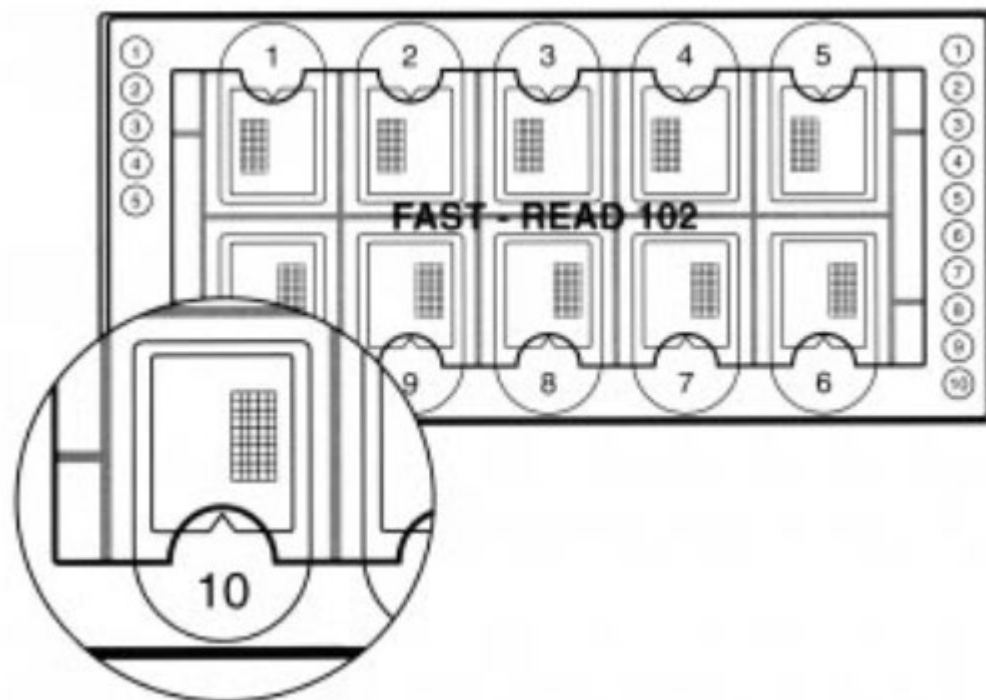
$$\text{Up:Uc} = 200 : 45,2 = 4,42$$

Analýza moči:

5) mikroskopická analýza – sediment

5 ml:
resuspenze sedimentu v 0,5 ml

objektiv 40 (bb.) a 10 (válce)



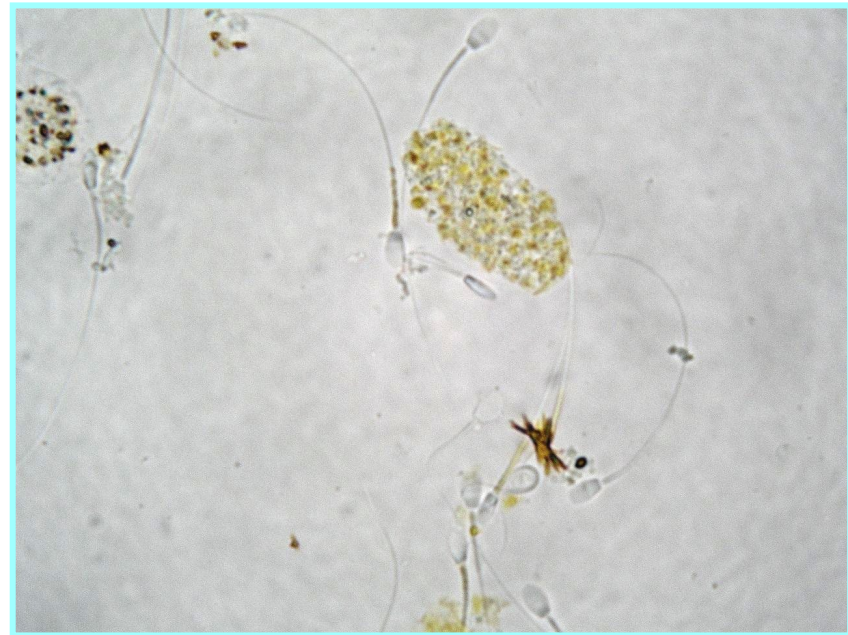
Analýza moči:

5) mikroskopická analýza – sediment

buňky: RBC, WBC, epitelie (močový/pohlavní aparát)
krystaly
válce

Analýza moči:

5) mikroskopická analýza – sediment



Analýza moči:

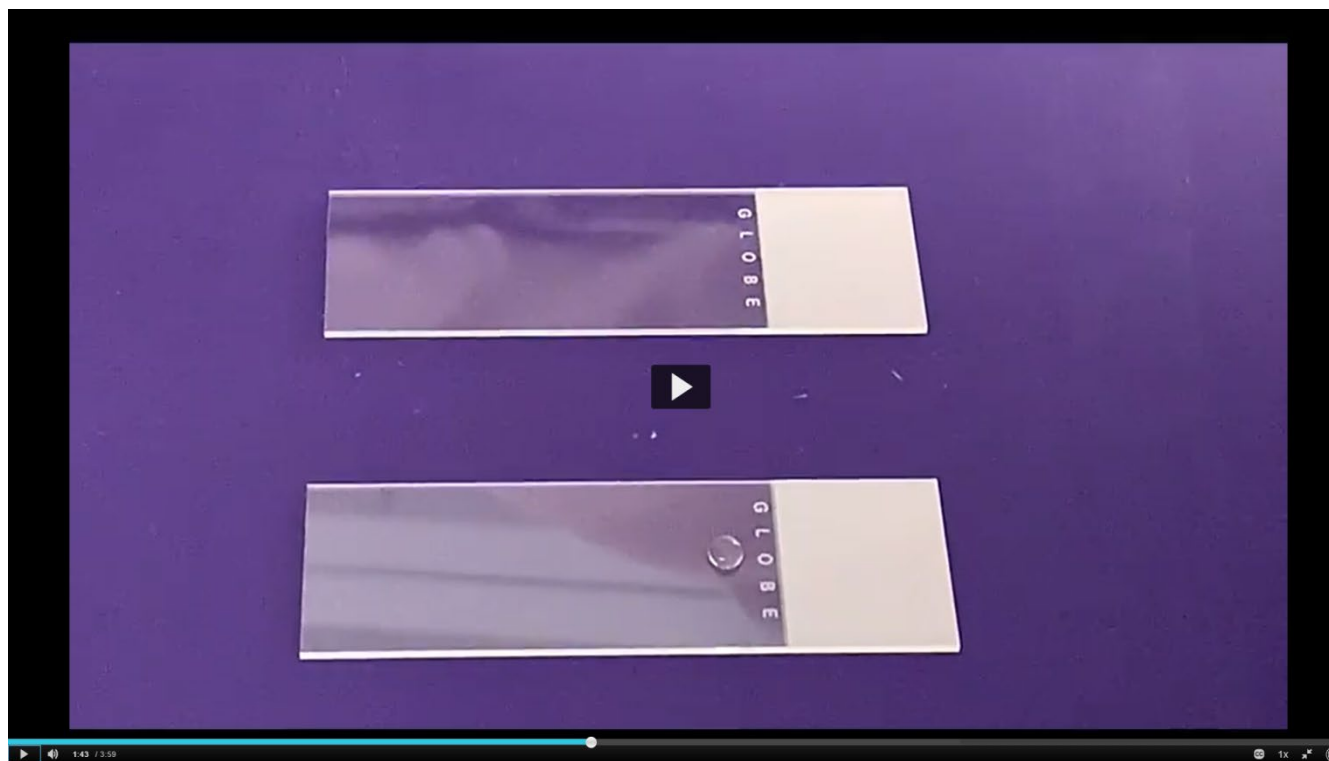
5) mikroskopická analýza – sediment



Analýza moči:

5) mikroskopická analýza – lineární roztěr

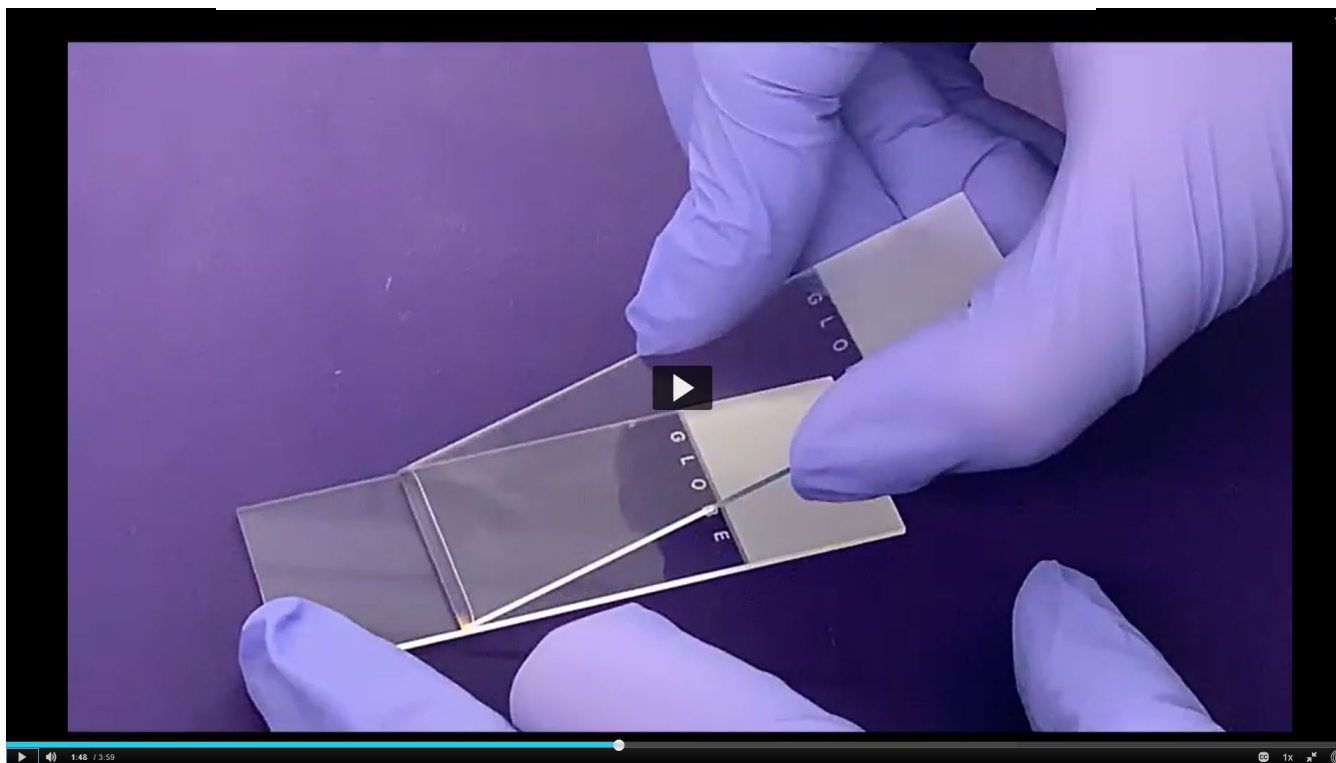
<https://www.youtube.com/@KStateVDL>



Analýza moči:

5) mikroskopická analýza – lineární roztěr

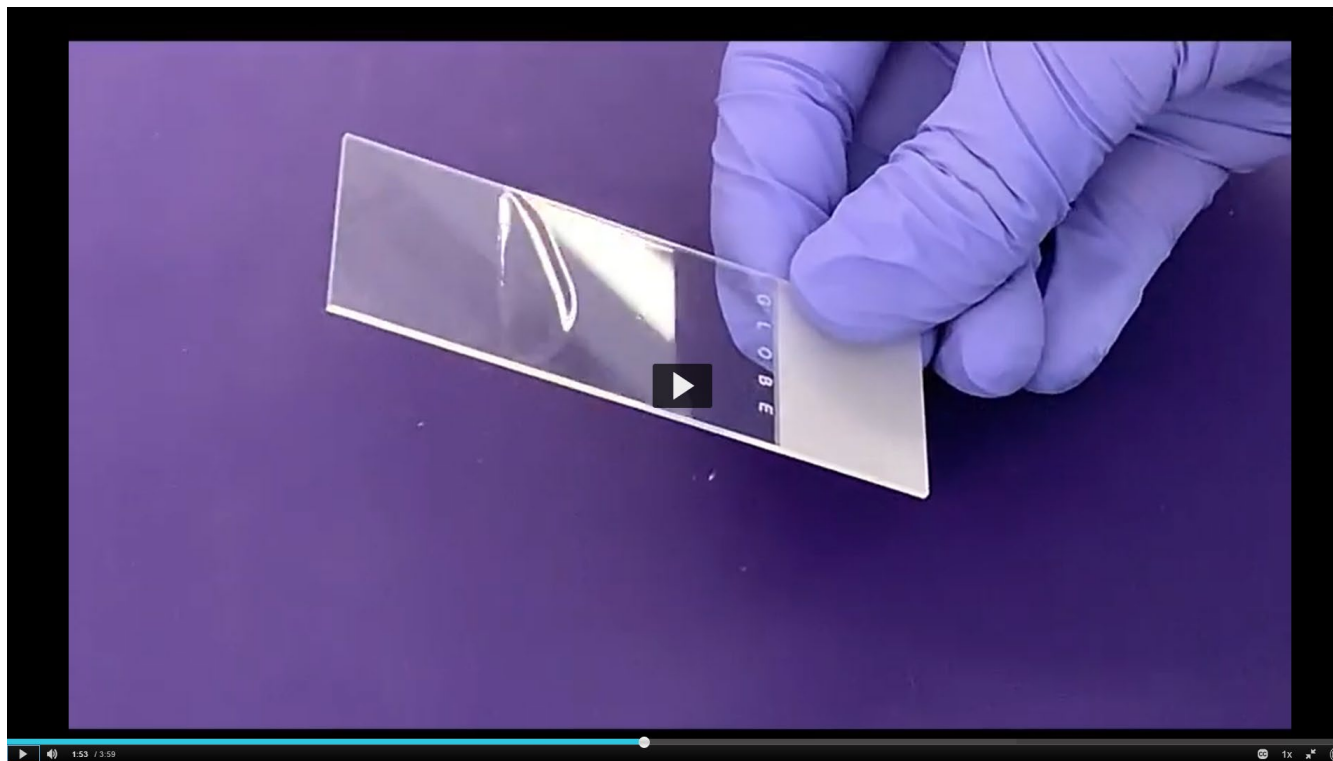
<https://www.youtube.com/@KStateVDL>



Analýza moči:

5) mikroskopická analýza – lineární roztěr

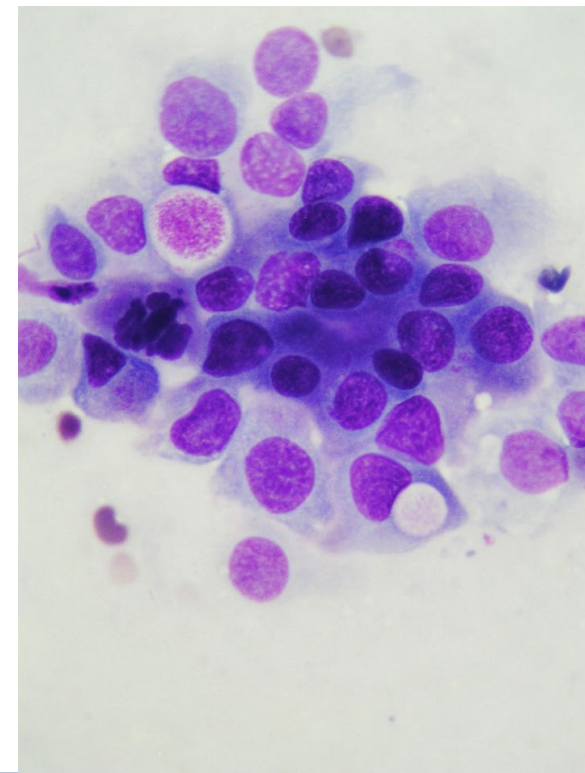
<https://www.youtube.com/@KStateVDL>



Analýza moči:

5) mikroskopická analýza – lineární roztěr

<https://www.youtube.com/@KStateVDL>



Analýza efuzí:

- 1) makroskopické posouzení
- 2) mikrobiologická analýza (kultivace)
- 3) stanovení počtu bb.

Centrifugace (cytologie x biochemie)

- 4) biochemická analýza (supernatant)
- 5) mikroskopická analýza (roztěr)

Analýza efuzí:

1) makroskopické posouzení

barva

zákal (bb., tuk. částice)

zápach

Analýza efuzí:

3) stanovení počtu bb.

EDTA odběrovka

hematologický analyzátor

Analýza efuzí:

Centrifugace

cytologie: cca 400 g (cca 1500 ot/min), 3-5 min

biochemie: cca 1500 g (cca 3000 ot/min), 5-10 min

Analýza efuzí:

4) biochemická analýza (supernatant)

prázdňá odběrovka

specifická hmotnost (hustota)

TP, LDH

laktát, glukóza

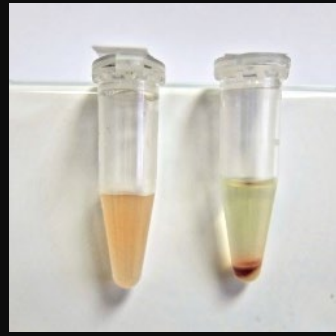
triacylglyceroly, cholesterol

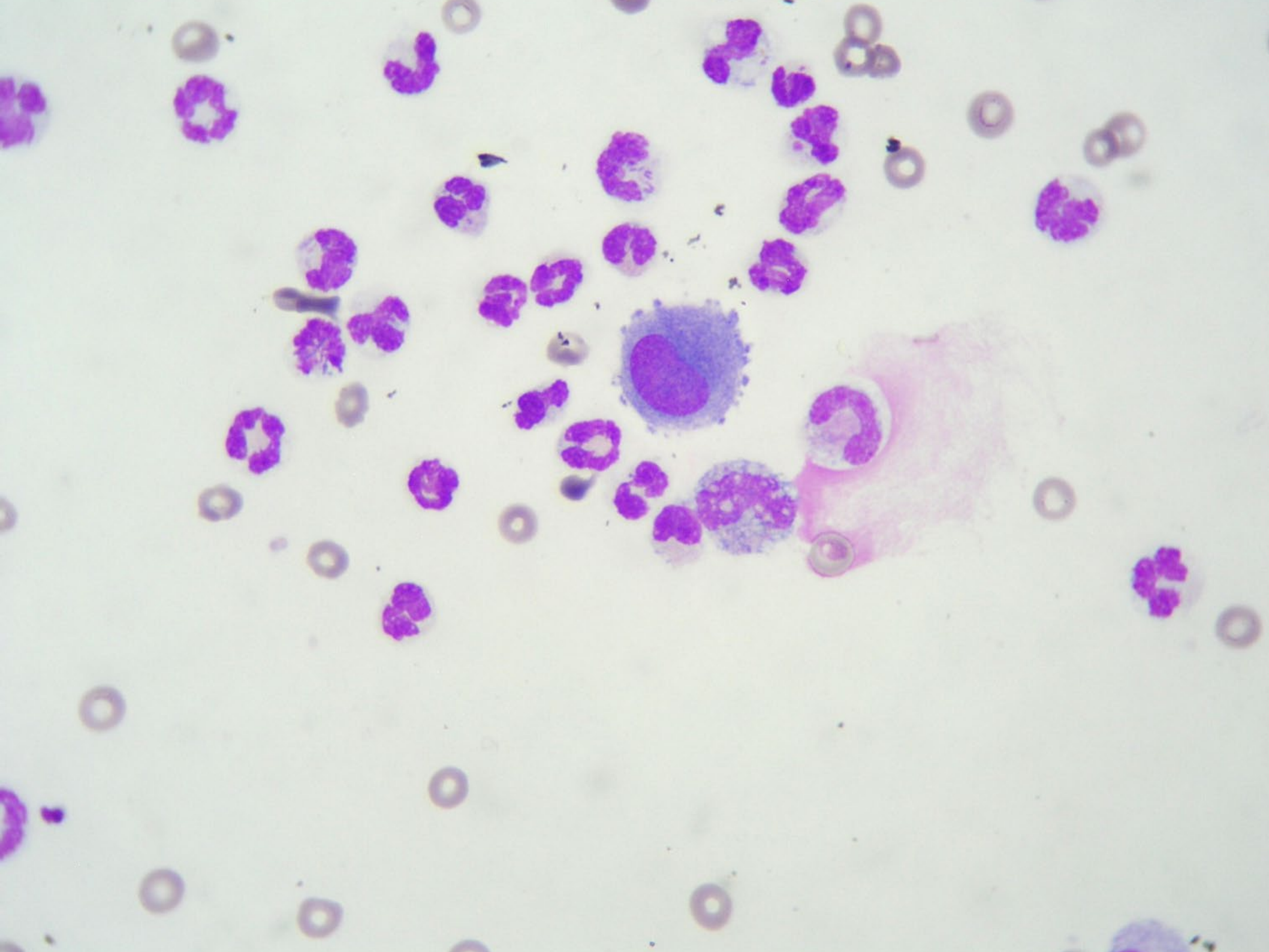
kreatinin

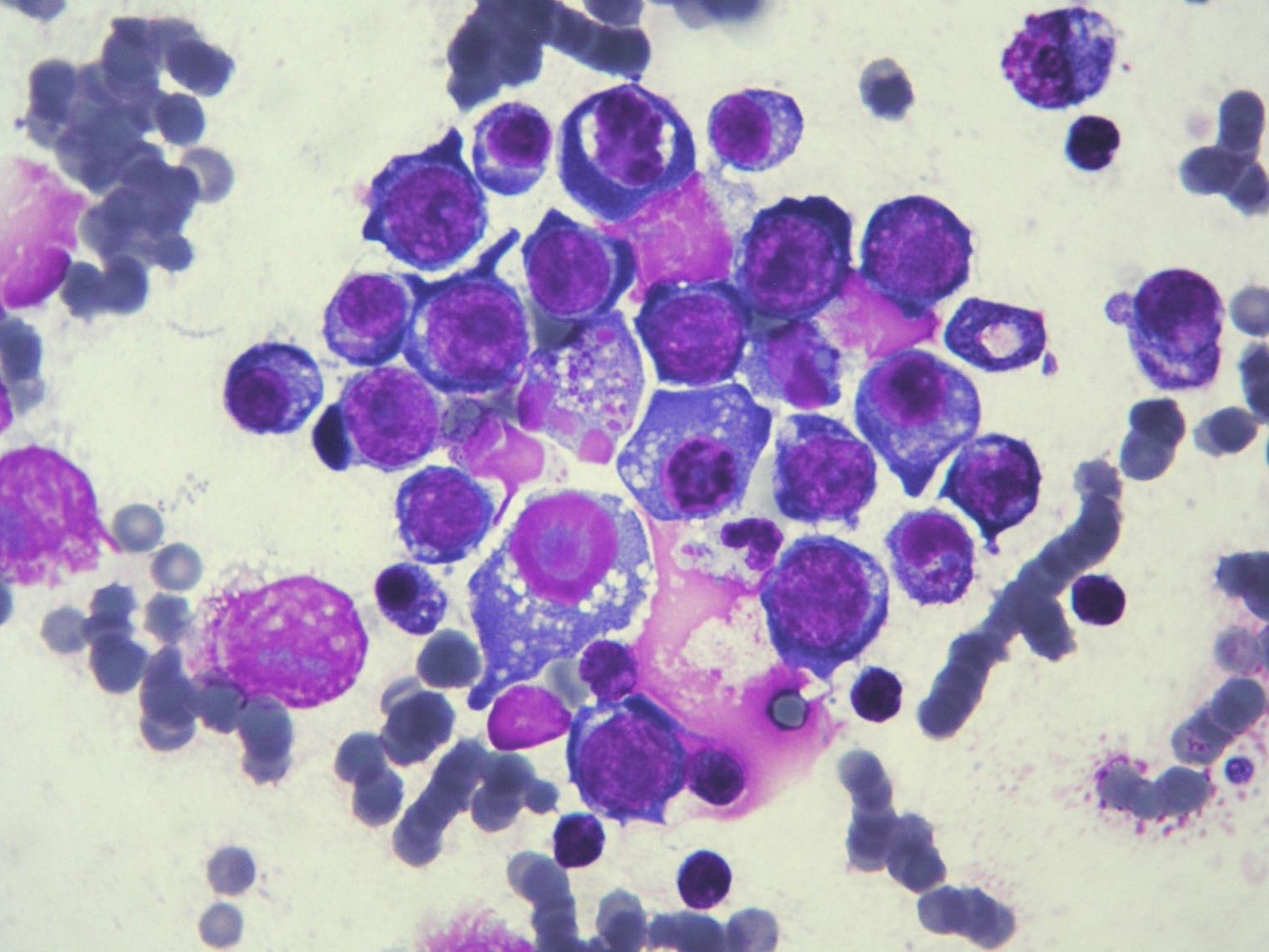
bilirubin

Analýza efuzí:

5) mikroskopická analýza
(lineární roztěr, squash technika)
bakterie
nádorové bb.

	TNCC: 0,9x10⁹/l
	TNCC: 77,2x10⁹/l
	TNCC: 832,5x10⁹/l





Analýza efuzí:

Základní kategorie

	TRANSUDÁT	EXSUDÁT
TNCC	$< 1 \times 10^9 / l$	$> 5 \times 10^9 / l$
cytologie	neu, mf, ly	neu, mf, ly, mes
TP	$< 25 \text{ g/l}$	$> 25 \text{ g/l}$
LDH	$< 3,5 \text{ } \mu\text{kat/l}$	$> 3,5 \text{ } \mu\text{kat/l}$
Hustota	< 1017	> 1025

Analýza efuzí:

Specifické kategorie

Hemoragická efuze: $Ht_{ef} > 0,1$ (resp. 20 - 25 % hodnoty Ht v krvi)

Chylózní efuze: $TAG_{ef} > TAG_s$, $Chol_{ef} < Chol_s$

Uroabdomen: $CREA_{ef} : CREA_s > 2$

Biliární efuze: $Bi_{ef} : Bi_s > 2$, $ŽK_{ef} \uparrow \uparrow \uparrow$

Neoplastická efuze: nádorové bb.