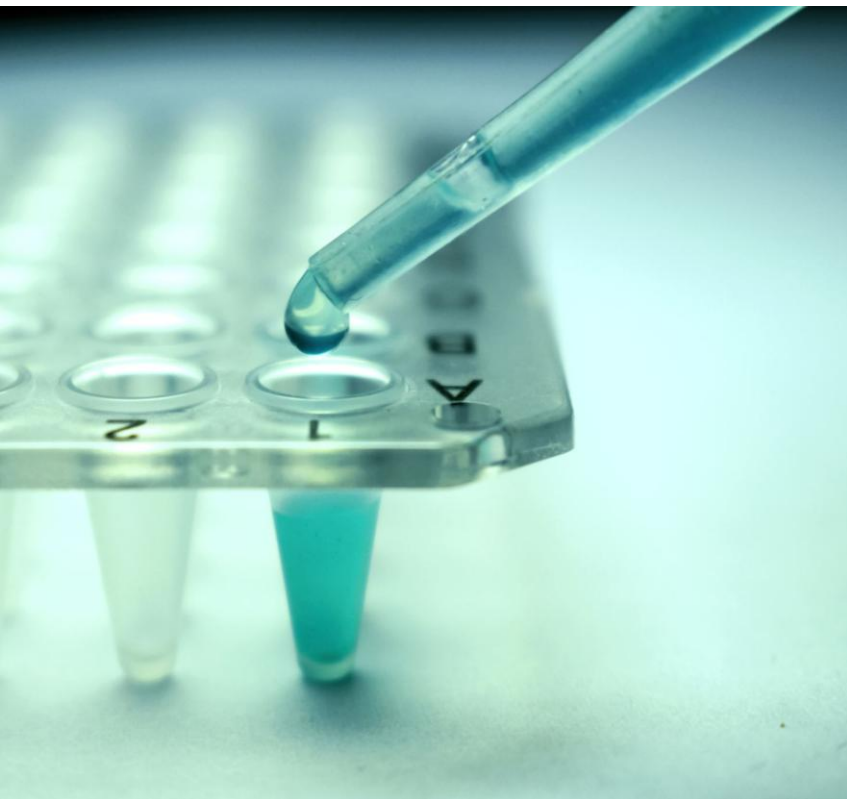




BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ KREVNÍ PLAZMY/SÉRA

- Laboratorní stanovení přítomnosti a množství chemických látek ve vzorcích odebraných ze živého organismu
- Používá se ke zjištění stavu organismu a jeho vnitřních orgánů
- Provádí se v případě onemocnění nebo v rámci preventivní prohlídky

- Zjistí koncentraci jednotlivých iontů a stav vnitřního prostředí
- Informace o celkovém metabolismu
- Funkci jater, ledvin, množství tuků a bílkovin
- Dokreslují celkový obraz při stanovování diagnózy
- Na jejich základě je možné navrhnout nebo upravit léčbu a sledovat průběh onemocnění

BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ - PREANALYTICKÁ FÁZE

- Příprava pacienta
- Příprava odběrového materiálu
- Odběr vzorku
- Transport
- Zpracování vzorků - centrifugace (rpm x rcf)
- skladování



Tab. 2 – Pokles koncentrace glukózy v závislosti na čase (bovinní krev)

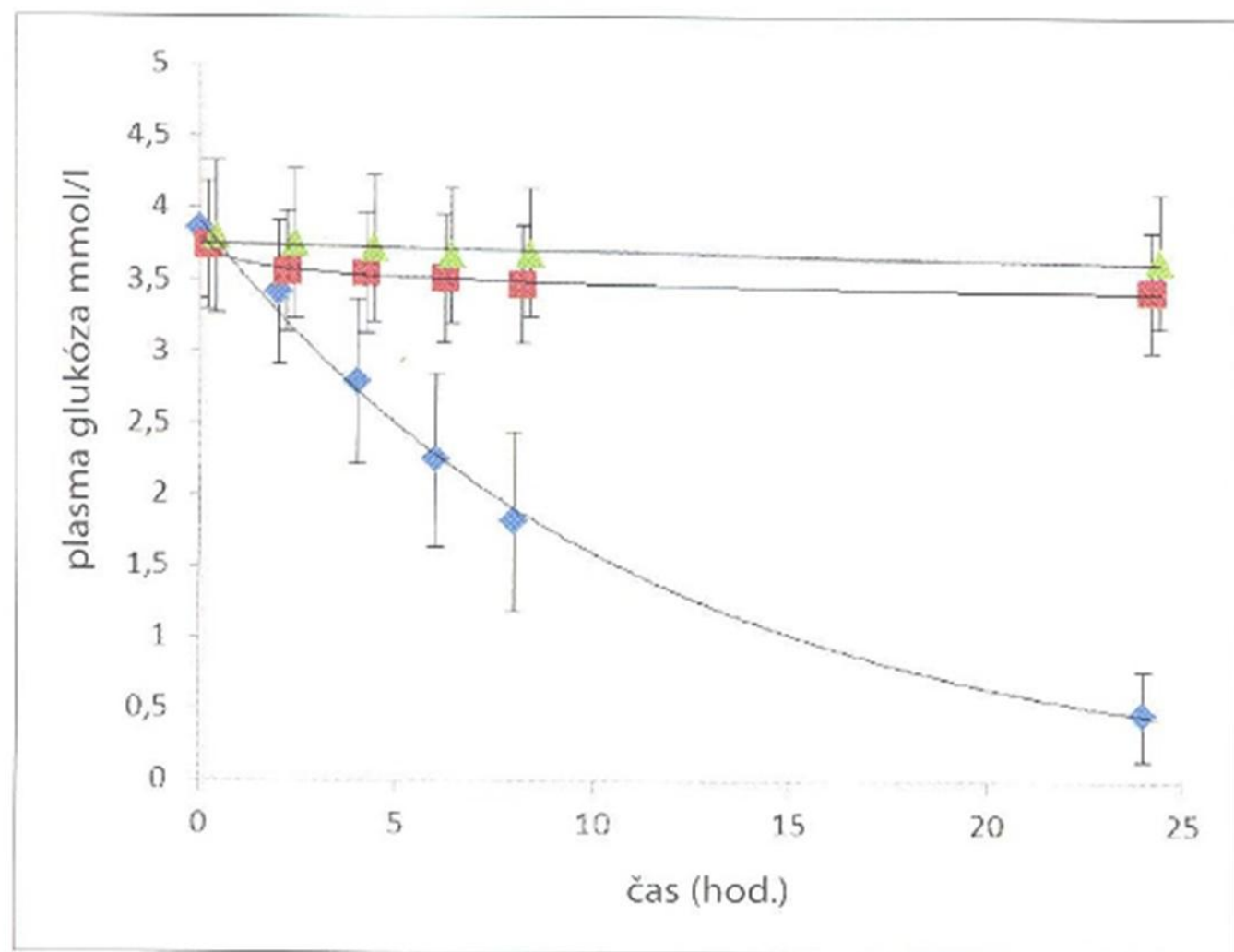
N = 13						
Čas	Průměr ± směrodatná odchylka (mmol/l)			Procento poklesu		
(hod.)	0	F	F + C	0	F	F + C
0	3,85 ± 0,48	3,74 ± 0,44	3,80 ± 0,53	100	100	100
2	3,41 ± 0,50**	3,56 ± 0,42*	3,75 ± 0,52 ⁰	88,6	95,2	98,7
4	2,79 ± 0,58***	3,55 ± 0,42*	3,72 ± 0,51 ⁰	72,5	94,9	97,9
6	2,24 ± 0,61***	3,51 ± 0,45**	3,67 ± 0,47 ⁰	58,2	95,5	96,6
8	1,81 ± 0,63***	3,47 ± 0,41**	3,69 ± 0,45 ⁰	47	93,3	97,1
24	0,46 ± 0,31***	3,47 ± 0,44**	3,64 ± 0,46**	4,2	92,5	95,8

0 – bez konzervantu, F – konzervace fluoridem
F + C – konzervace fluoridem a citrátem
***) $p < 0,001$ versus čas $t = 0$
**) $p < 0,01$ versus čas $t = 0$
*) $p < 0,05$ versus čas $t = 0$
⁰) $p > 0,05$: nesignifikantní versus čas $t = 0$

Filípek a kol. 2018. Stabilita glukózy v odebrané krvi u přežvýkavců. Veterinářství.

Doporučení:

- oddělení plazmy/séra do 30 minut od erytrocytů
- použití fluoridu sodného s citrátem



Graf 2 – Pokles koncentrace glukózy v krvi v závislosti na čase
(bovinní krev)

◇ bez konzervantu

□ konzervace fluoridem

Δ konzervace fluoridem a citrátem

BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ - PREANALYTICKÁ FÁZE

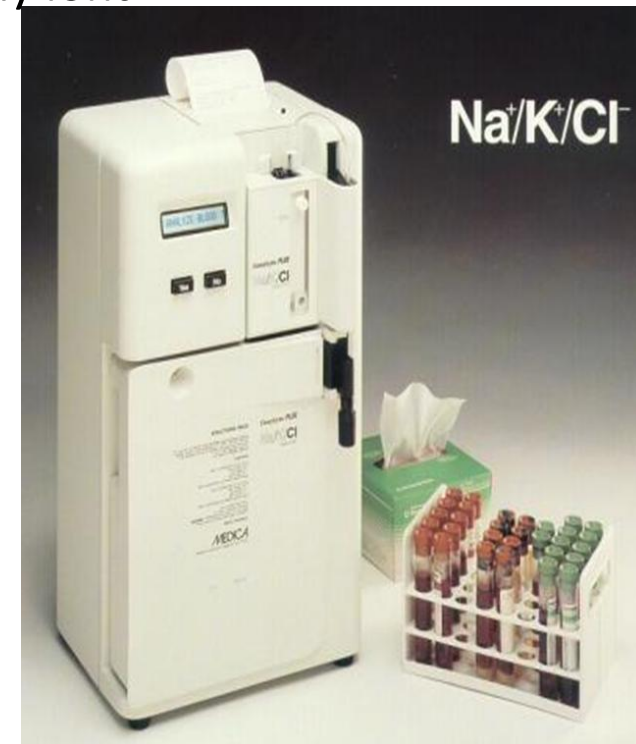
Antikoagulační látka	Účinná koncentrace (g/l)
Heparin	0,2
EDTA (Na ₂ , K ₂)	1-2
Citrát (Na)	5
Oxalát (Na)	1-2
Fluorid (Na)	10

BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ - ANALYTICKÁ FÁZE



Glukometr - reflexní fotometri x
elektrochemické stanovení

ISE – potenciometrie; elektroda
opatřená speciální membránou
propustnou pouze pro daný iont



BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ - ANALYTICKÁ FÁZE



VETTEST

(suchá chemie – reflexní fotometrie)

imunologický analyzátor

(hormony)

reakce antigenu a protilátky – chemiluminiscence nebo
fluorescence



BIOCHEMICKÉ VYŠETŘENÍ - ANALYTICKÁ FÁZE

Biochemický analyzátor
fotometr

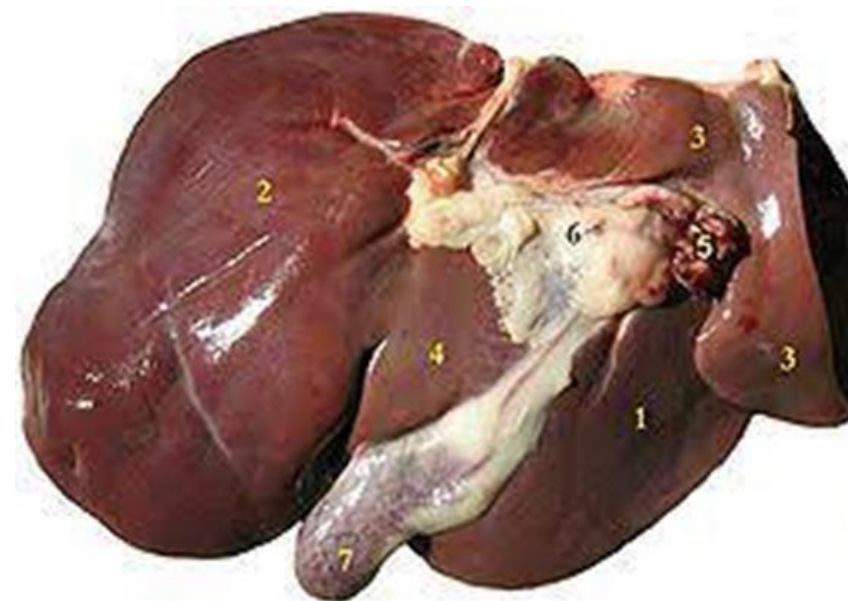


MATERIÁL K VYŠETŘENÍ

- Krev - sérum/plasma
- Moč
- Bachorová tekutina
- Cerebrospinální mok
- Výpotky

VYŠETŘENÍ JATER

- ALT - alanintransferáza
- ALP - alkalická fosfatáza
- AST - aspartátaminotransferáza
- GMT - glutamyltransferáza
- LD - laktátdehydrogenáza
- Bilirubin
- Albumin
- Močovina
- Žlučové kyseliny, cholesterol, TAG



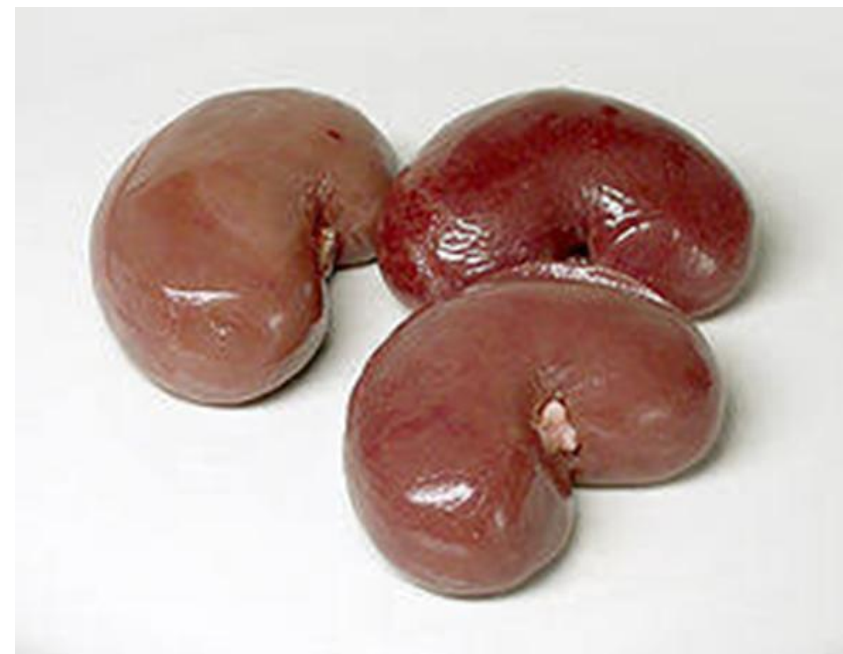
VYŠETŘENÍ LEDVIN

Močovina

- Syntetizována v játrech
- Odpadní látka - vylučuje se z těla nadbytečný dusík

Kreatinin

- Vzniká ve svalech z kreatinfosfátu
- Přechází do krve a je vylučován močí
- Tvorba odrazem velikosti svalové hmoty



VYŠETŘENÍ LEDVIN

P- fosfor

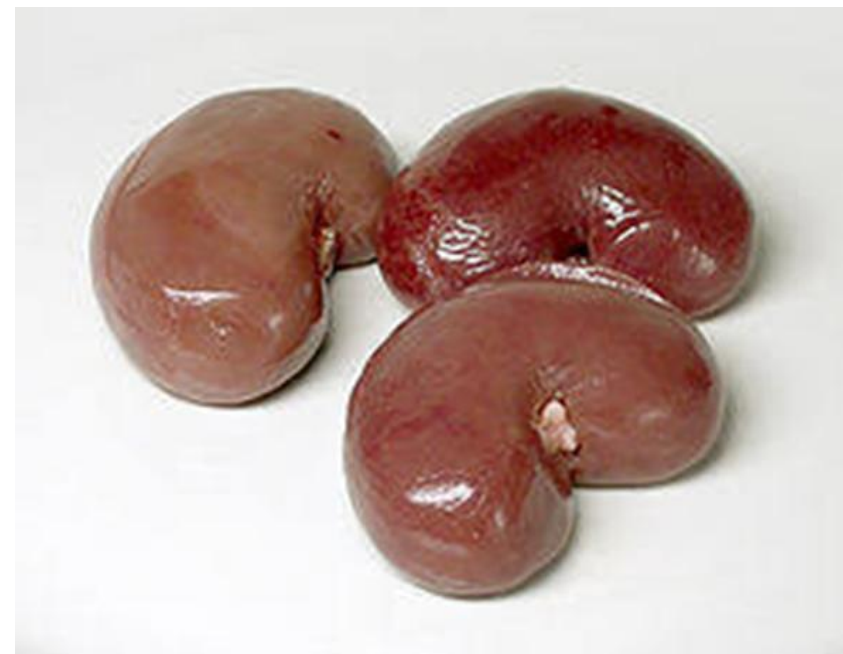
K - draslík

- Udržuje správnou funkci nervosvalového systému
- Regulace vody ve tkáních a buňkách

Albumin

- Syntetizován v játrech
- Udržování onkotického tlaku
- Funkce transportní, protilátky

ALP



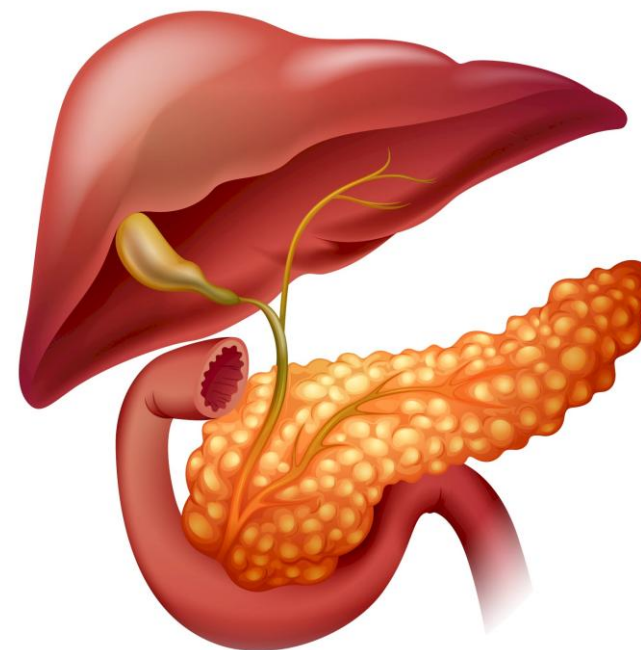
VYŠETŘENÍ SLINIVKY

Pankreatická lipáza

- Sekreční enzym produkovaný acinárními buňkami pankreatu
- V případě poškození jater se do krve dostává větší podíl tohoto enzymu

Amyláza

- Enzym zajišťující štěpení škrobu na jednodušší sacharidy



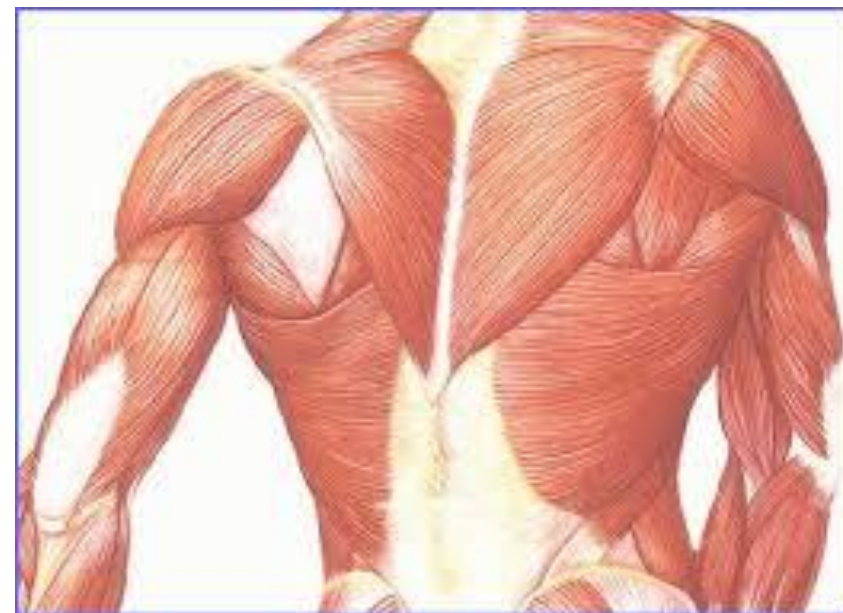
VYŠETŘENÍ SVALŮ

AST - asparátaminotransferáza

- V játrech, myokardu, kosterním svalstvu, ledvinách, pankreatu a ery
- Zvýšený je známkou rozpadu hepatocytů
- Stanovení falešně pozitivně ovlivňuje hemolýza, v erys ve velkém množství

CK - kreatinkináza

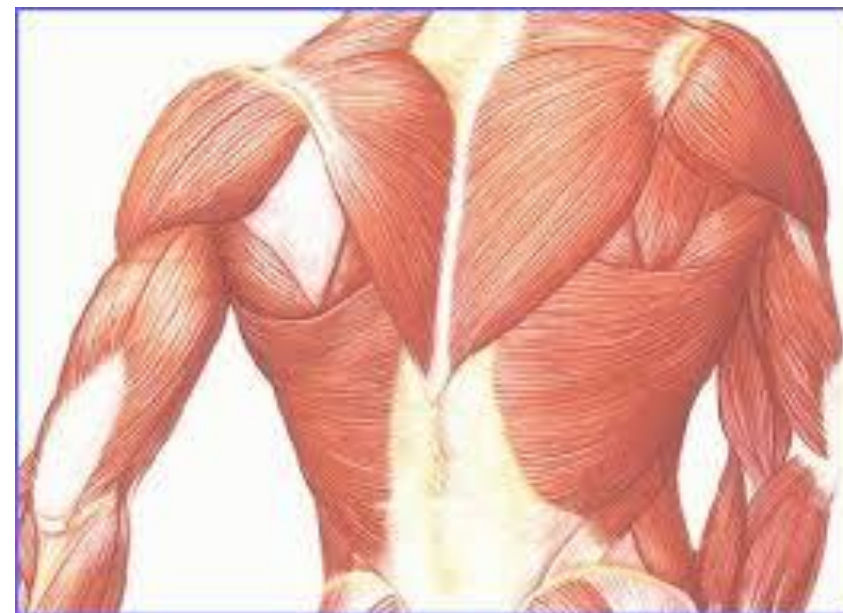
- Kosterní svalstvo, myokard a mozková tkáň



VYŠETŘENÍ SVALŮ

LD - laktátdehydrogenáza

- Přítomna v cytoplasmě buněk mnoha tkání, do cirkulace se uvolňuje již při mírném tkáňovém poškození
- Nespecifický marker rozpadu buněk, např. nádorové onemocnění
- Vzhledem k vysokému obsahu v erys může sérovou koncentraci falešně pozitivně zvýšit hemolýza



VYŠETŘENÍ KOSTÍ

ALP - alkalická fosfatáza

- Výhradně v cytoplazmatických membránách - v epitelu vývodných cest žlučových, játrech, kostech, střevech, srdci a v plicích

Ca- vápník

- Extracelulární iont
- Vytváří strukturu zubů a kostí
- Regulace neuromuskulární činnosti



VYŠETŘENÍ KOSTÍ

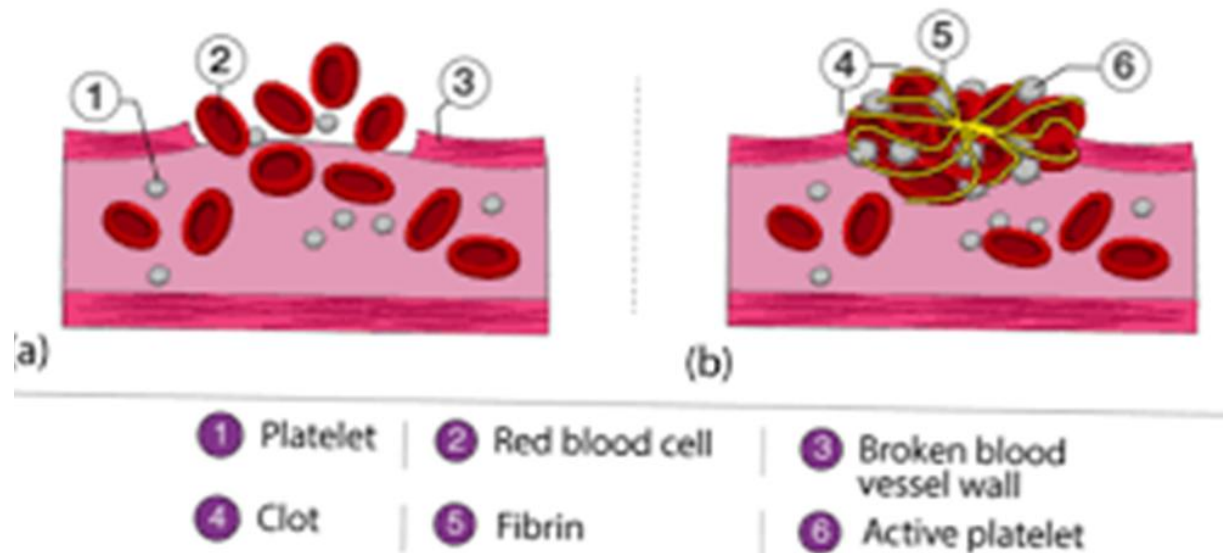
P – fosfor

- Společně s Ca základním stavebním prvkem kostí a zubů
- Součástí všech nukleových kyselin
- Základní součást buněčných membrán (fosfolipidy), ATP



VYŠETŘENÍ PORUCH SRÁŽENÍ KRVĚ

- PT - protrombinový čas
- APTT - parciální protrombinový čas
- Fibrinogen
- Celková bílkovina
- Albumin
- Močovina



HORMONÁLNÍ ONEMOCNĚNÍ

- Štítná žláza - T4, TSH
- Nadledvinky
 - Cushingův syndrom – ALP, cholesterol, TAG, kortizol, glukóza
 - Addisonova choroba - Močovina, kreatinin, albumin, Na:K
- Slinivka - glukóza, fruktosamin

VYŠETŘENÍ MOČI



☐ Belund eilt	1	☐ Hämoglobin	12	☐ Kreatinin	53
EDTA	2	☐ Amylase	15	☐ GPT	54
☐ großes Blutbild	3	☐ ASL	16	☐ Harnsäure	55
☐ kleines Blutbild	4	☐ Bilirubin direkt	17	☐ Harnstoff	56
☐ HbA1c	5	☐ Bilirubin gesamt	18	☐ HBDH	57
☐ Retikulozyten	6	☐ Calcium	19	☐ HDL-Cholesterin	58
☐ Blutsenkung	7	☐ Cholesterin	20	☐ IgA	59
☐ Diff. Blutbild (Ausstrich)		☐ Cholinesterase	21	☐ IgG	60
Citrat	8	☐ CK	22	☐ IgM	61
☐ Quick	9	☐ CK-MB	23	☐ Kalium	
☐ Quick unter Marcumar-Therapie	10	☐ CRP	24	☐ Kreatinin	
☐ Thrombinzeit	11	☐ Eisen	25		
		☐ Eiweiß Elektrophorese			

VYŠETŘENÍ MOČI - PREANALYTICKÁ FÁZE

Příprava pacienta

-klidné zacházení se zvířetem, vliv krmiva, krytí, léčiva

Odběr vzorku

-nejlépe ranní (informace o koncentrační schopnosti ledvin)

-způsoby odběru



VYŠETŘENÍ MOČI - PREANALYTICKÁ FÁZE

Skladování vzorku

- pokojová teplota do 30 min ($\uparrow$ pH, $\downarrow$ glukózy, tvorba krystalů, rozpad buněk)
- při 4 °C (nebezpečí tvorby nových krystalů)
- zamražení (destrukce močového sedimentu)
- chemická konzervace (interference s chemickým vyšetřením; kys. Boritá, toluen, formalín - antimikrobiální účinky)

Transport

VYŠETŘENÍ MOČI - ANALYTICKÁ FÁZE

- Fyzikální vyšetření
- Chemické vyšetření
- Močový sediment
- Mikrobiologické vyšetření

FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ

- Objem
- Poměrná hustota (specifická hmotnost)
- Barva
- Zákal
- Zápach

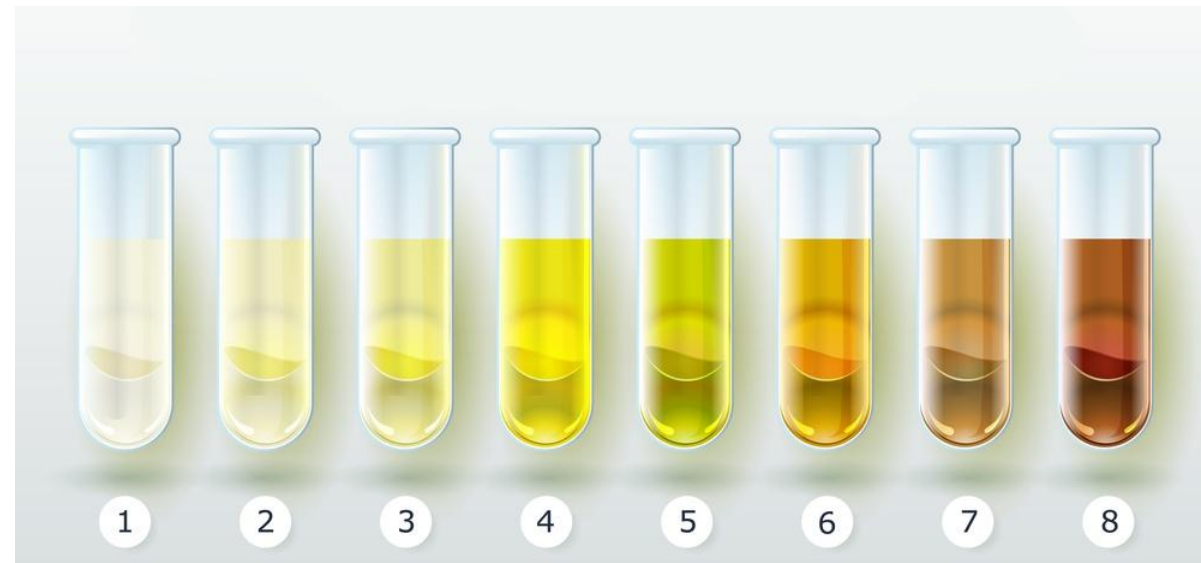
FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ MOČI - OBJEM

- Sběr za 24 hodin
- Polyurie x oligurie x anurie

Druh zvířete	ml/kg živé hmotnosti/den
Pes	24-50
Kočka	20-40
Kůň	8-30
Skot	16-50
Ovce	10-40
Koza	10-40
Prase	20-80

FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ MOČI - BARVA

- Vliv hustoty, krmiva a některých léků
- Normální barva dána kombinací pigmentů urochromu a urobilinu



PŘÍČINY ABNORMÁLNÍ BARVY MOČI

- **světlá** – nadměrné pití, selhání ledvin, polyurie
- **červená** – erytrocyty, hemoglobin, rostlinná barviva
- **červenohnědá** – krev, intoxikace (Pb, Hg)
- **žlutohnědá až žlutozelená** – příměs žlučových kyselin
- **mléčně bílá** – lipidy, krystaly
- **tmavá moč** – dehydratace, nevhodné skladování

FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ MOČI - BARVA

Mezidruhové rozdíly

Druh zvířete	Barva
Pes	světle žlutá až hnědožlutá
Kočka	žlutá až výrazně tmavožlutá
Kůň	žlutá, okrová až hnědá, kalná
Skot	světle žlutá až tmavě hnědožlutá
Ovce	světle žlutá až tmavě hnědožlutá
Koza	světle žlutá až tmavě hnědožlutá
Prase	světle žlutá až tmavě žlutá

FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ MOČI - HUSTOTA

- Vyjadřuje koncentraci rozpuštěných látek v moči
- Schopnost tubulárního systému zabezpečovat zpětnou resorpci vody
- Ovlivněna příjmem potravy, vody, výdejem vody, teplotou a dobou odběru
- Refraktometr, urinometr, diagnostické proužky
- Pes 1,001 – 1,075; kočka 1,001 – 1,085
- hyperstenurie/izostenurie/hypostenurie



FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ MOČI - ZÁPACH

- Mezigruhové rozdíly, vliv pohlaví, vliv některých farmak
- Hodnotit jen u **čerstvé** moči
- Významně ovlivněn skladbou krmiva a skladováním (dlouhodobé stání - oxidace, bakteriální rozklad)
- Býložravci - aromatický pach
- Masožravci - pichlavě ostrý
- Ketolátky - diabetes
- Nejčastější abnormalita - amoniakální zápach (bakterií produkující ureázu)

FYZIKÁLNÍ VYŠETŘENÍ MOČI - ZÁKAL, PRŮHLEDNOST

- Čerstvá moč by měla být čirá, transparentní
- Výjimkou moč koní (kalná) - příměsek hlenu a vysoký obsah CaCO_3
- Patologické změny v důsledku příměsi hlenu, hnisu, krve, bakterií, buněk (erys, leu), spermií, tukových kapének
- Průhlednost se hodnotí pomocí čtecí zkoušky (čitelnost textu umístěného za průhlednou zkumavkou se vzorkem)

CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI -PH

- Čerstvá moč, bez konzervace dochází k rozmnožení MO a hydrolýze močoviny na amoniak ($\uparrow$ pH)
- Kyselé ph - masožravci (z důvodu obsahu
- Alkalické ph - býložravci (z důvodu obsahu uhličitan vápenatý)
- Všežravci - dle krmiva
- Ph metr x diagnostické proužky
- Alkaliurie x acidurie

Druh zvířete	pH	Druh zvířete	pH	Druh zvířete	pH
Pes	5,5 – 7,0	Kůň	7,6 – 9,0	Ovce	7,5 – 8,5
Kočka	5,0 – 7,0	Skot	7,0 – 8,4	Koza	7,5 – 8,5
Prase	5,5 – 8,0				

CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI - BÍLKOVINA

- Proteinurie
- Proteiny se fyziologicky resorbují z 99 % v proximálním tubulu – v moči nízké koncentrace (pod mezí detekce)
- Přechodně zvýšené hodnoty při vysoké tělesné námaze, chladový stres
- Infekce močových cest, diabetická neuropatie
- Kůň - falešně pozitivní výsledky (fyziologická přítomnost mukoproteinů)
- Vyšší obsah proteinu - pěna
- Hodnocení s ohledem na hustotu, UPC

CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI - GLUKÓZA

- Překročení ledvinného prahu po určitou dobu (min. Po dobu 15 minut)
 - pes 10-12 mmol/l
 - kočka 13-15 mmol/l
- Stres
- Diabetes mellitus
- Hodnocení čerstvého vzorku (bez bakteriální kontaminace je glukóza v moči stabilní 24 h)
- Diagnostické proužky x spektrofotometrie

CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI - KETOLÁTKY

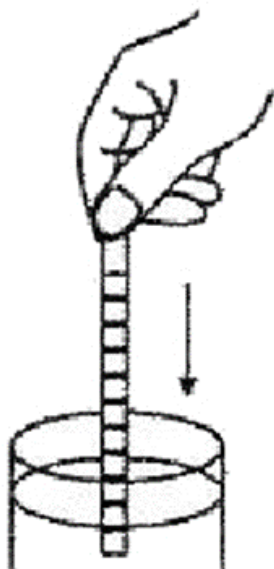
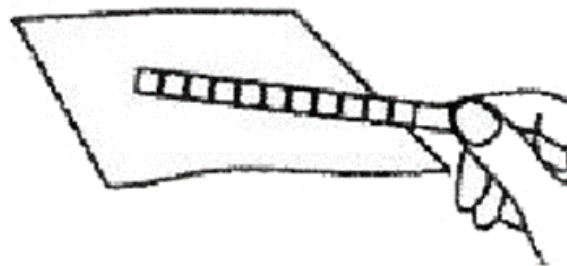
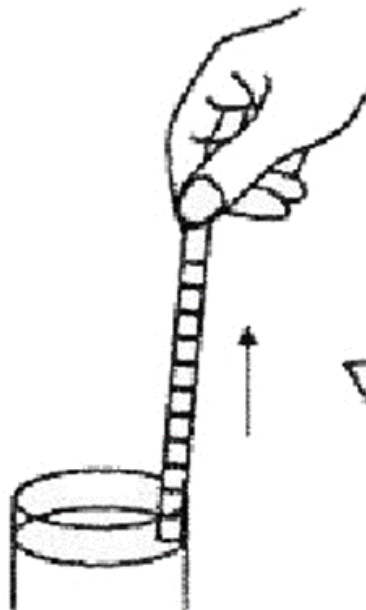
- Aceton, kyselina acetoctová, kyselina β -hydroxymáselná
- Za fyziologických podmínek pouze stopy těchto látek
- V kombinaci s glykosurií - diabetes mellitus
- Další příčiny: hladovění, dieta se sníženým obsahem cukrů a zvýšeným obsahem tuků
- Diagnostické proužky

CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI - BILIRUBIN

- Výskyt u koček vždy patologický (vysoký ledvinný práh)
- Pes - nízký ledvinný práh pro bilirubin (při zvýšené koncentraci v krvi)
- Fotolabilní - skladování tma, chlad
- ↑ stání vzorků - falešně negativní výsledky (spontánní oxidace na biliverdin)
- Hodnotit v souvislosti s hustotou
- Diagnostické proužky

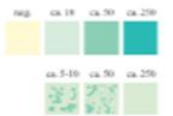
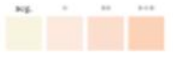
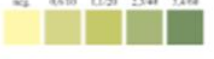
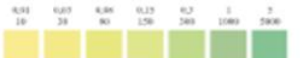
CHEMICKÉ VYŠETŘENÍ MOČI

- Urobilinogen
- Hemoglobin
- Myoglobin

1**2**

využívají principů, kdy činidla jsou inkorporovaná do vrstev reagenčních zón na daném diagnostickém proužku



Reakční zóny	Zkratka	Jednotky	Čas vyhodnocení	Barevná stupnice	Princip reakce	Citlivost	
						SI	Conv.
Hemoglobin	HEMO	Ery/ μ l	ca 60 s		oxidace chromogenu organickým peroxidem v přítomnosti hemoglobinu	5 Ery/ μ l	
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
Bilirubin	BILI	arb.j.	ca 60 s		reakce s diazoniou solí v kyselém prostředí	4,3 - 5,2 μ mol/l	0,25 - 0,30 mg/dl
Urobilinogen	UBG	μ mol/l mg/dl	ca 60 s		reakce s diazoniou solí v kyselém prostředí	6,0 μ mol/l	0,35 mg/dl
Glukóza	GLU	mmol/l mg/dl	ca 60 s		enzymatická reakce - glukosoxidasa, peroxidasa, chromogen	0,9 mmol/l	16 mg/dl
Bílkoviny	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
pH	pH		ca 60 s		směsný acidobazický indikátor		
Dusitany	NITRI		ca 60 s		modifikovaná Griessova reakce	11 mmol/l	0,05 mg/dl
Kyselina askorbová	ASCO	mmol/l mg/dl	ca 60 s		redukce kyseliny fosfomolybdenové na molybdenovou modř	0,2 - 0,3 mmol/l	3,0 - 5,0 mg/dl
Specifická hmotnost	SG		ca 60 s		barevná změna acidobazického indikátoru v závislosti na iontové výměně		
Leukocyty	LEU	Leu/ μ l	ca 120 s		enzymatická reakce - esteráza žěpí substrát na volný indoxyl, který dále reaguje s diazoniou solí	10 Leu/ μ l	
Mikroalbumin	Microalb	mg/l g/l	ca 60 s		proteinová chyba indikátoru - změna zbarvení acidobazického indikátoru v přítomnosti albuminu	0,03 g/l	30 mg/l
Kreatinin	Krea	mmol/l g/l	ca 60 s		Benedict-Behreova reakce	0,4 mmol/l	0,04 g/l



PocketCHEM
(reflexní fotometrie)

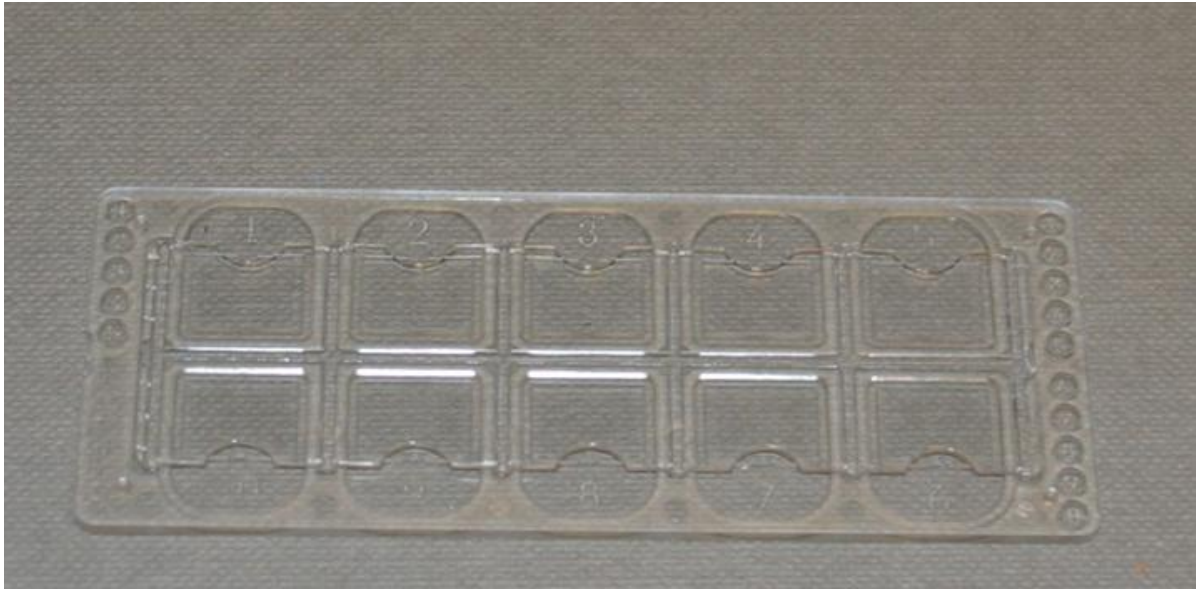
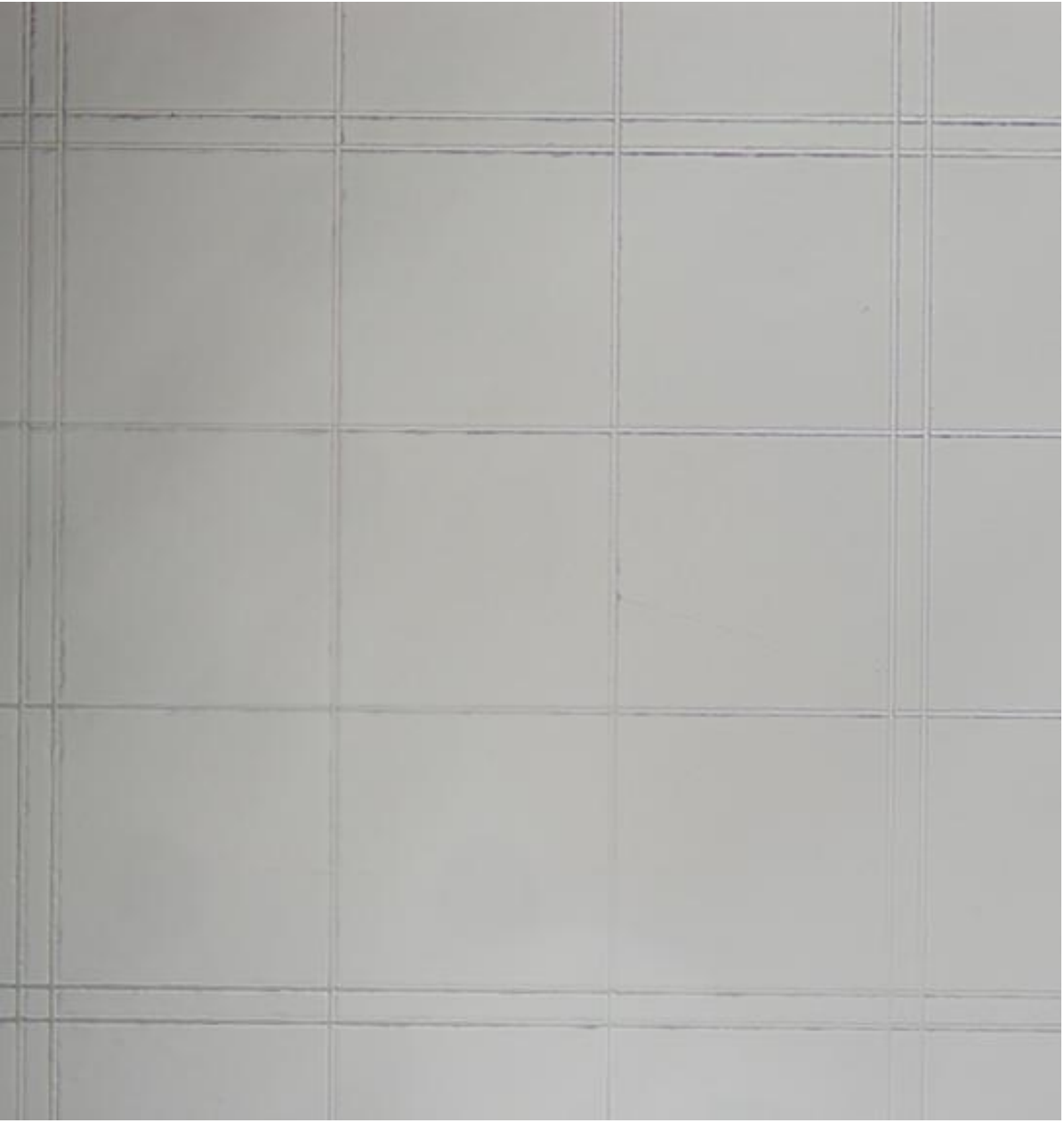
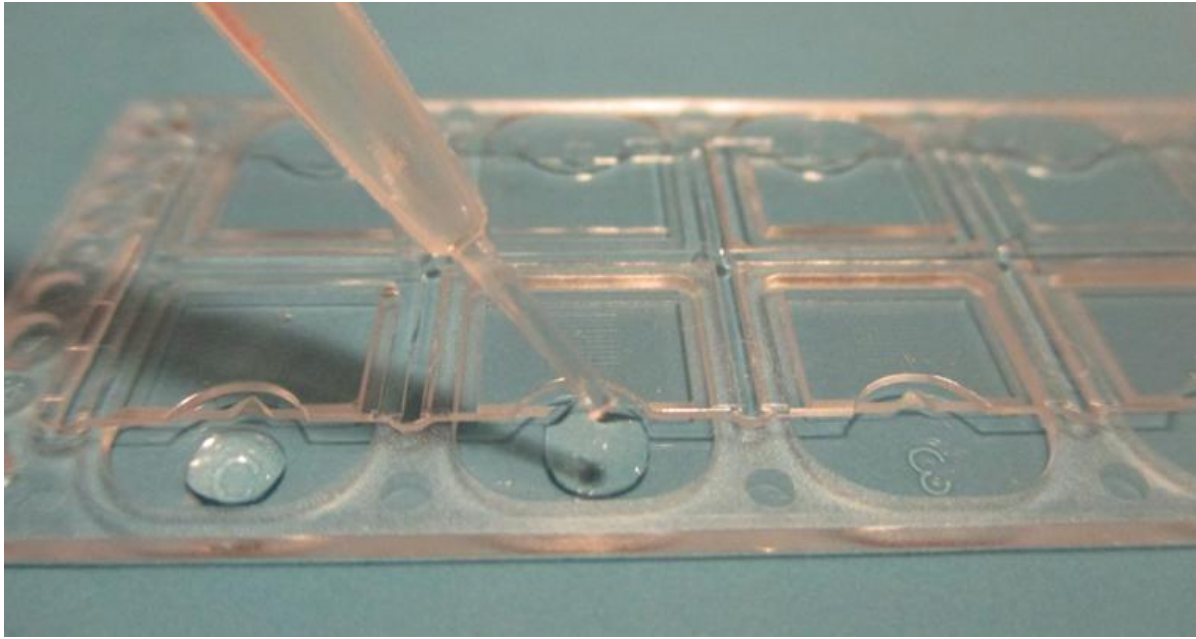
LABUMat
(robotizovaný
analyzátor –
diagnostické proužky)



**Močový analyzátor
automatizovaný**
(zcela automatizován,
vybaven zařízení pro
analýzu močového
sedimentu)

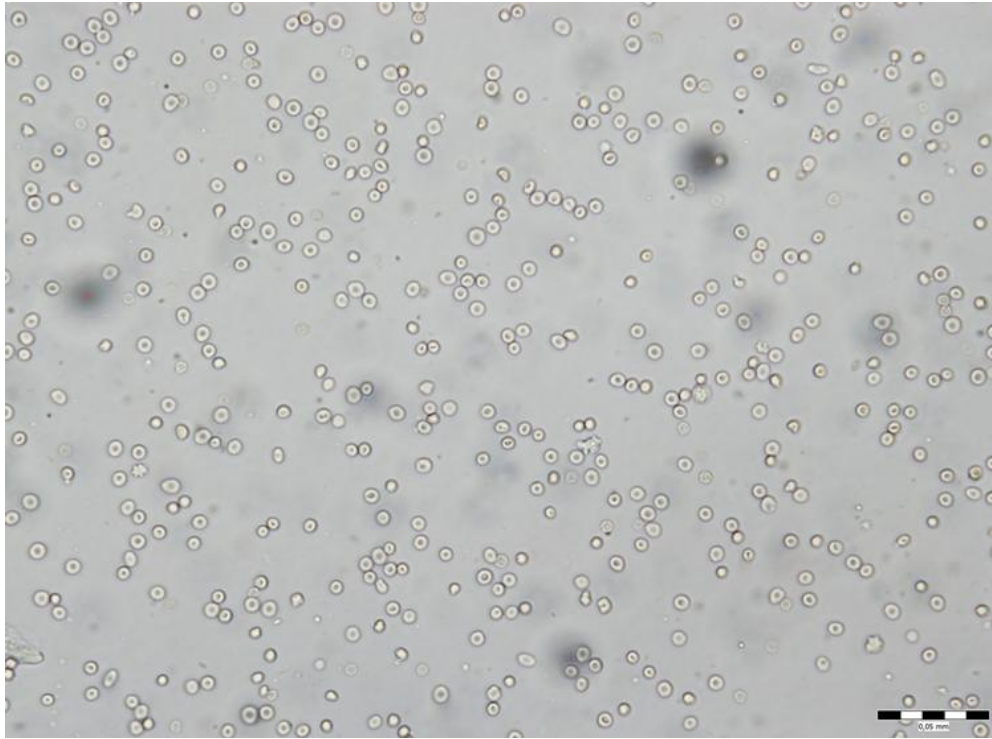
VYŠETŘENÍ MOČI - MOČOVÝ SEDIMENT

- Mikroskopie x analyzátor (digitální snímání částic, průtoková cytometrie)
- Indikováno při pozitivním nálezu chemického vyšetření
- Centrifugace (3-5 minut, 3 000 otáček/min) - vyšetření nutné provést do 2 h
- Erytrocyty, leukocyty (pyurie), epitelie (z epitelové výstelky renálních tubulů a vývodních cest močových)
- Válce (pouze renálního původu)
- Bakterie (=bakteriurie)
- Krystaly (struvit - fosforečnan hořečnato-amonný, uráty, oxaláty a další)

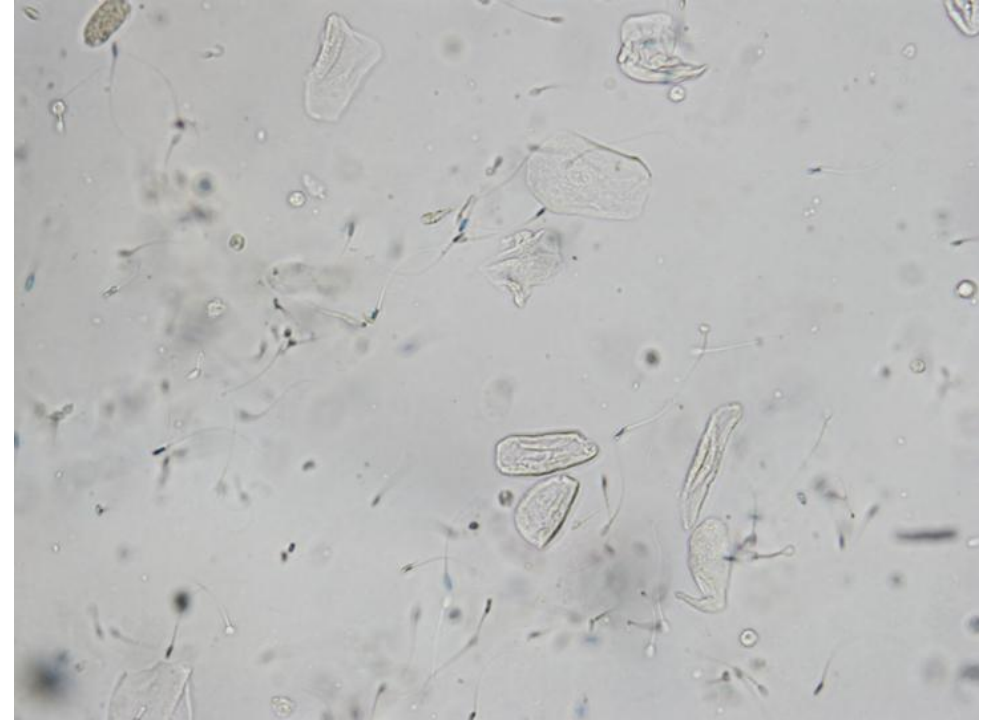
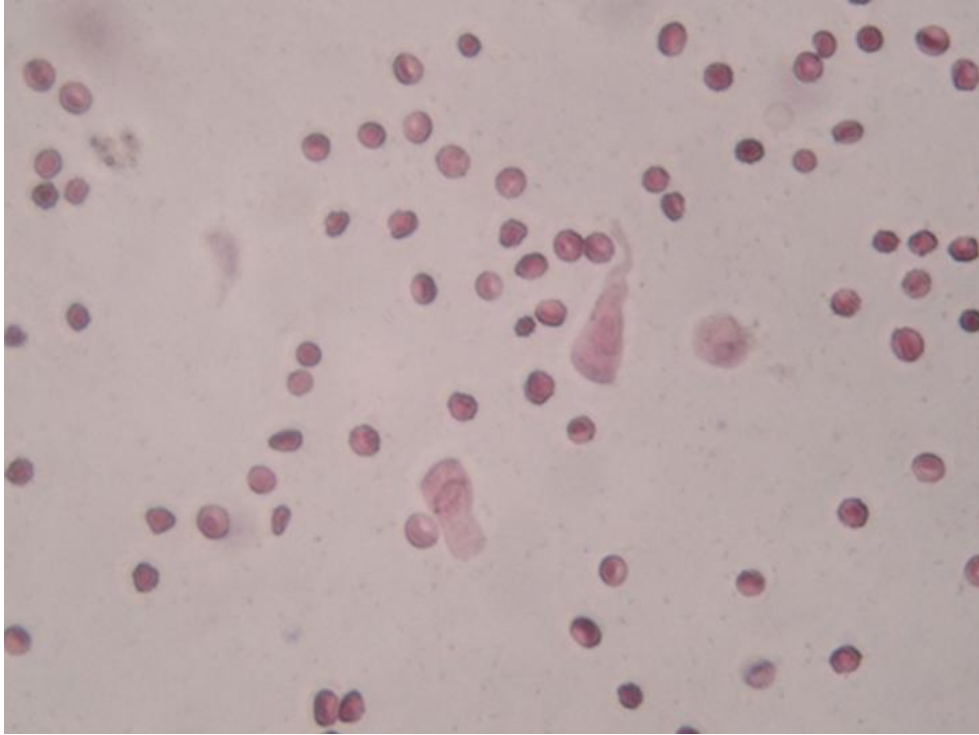


VYŠETŘENÍ MOČI - MIKROBIOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

- Mikrobiologické vyšetření (*Escherichia coli*, *Staphylococcus*)
- Odběr cystocyntézou
- Diagnostika bakteriálních infekcí močového traktu
- Kultivaci zahájit do 15 – 30 minut (jinak chladit 4 °C - až 12 hodin)
- Kvalitativní a kvantitativní kultivace



ERYTHROCYTY, LEUKOCYTY



EPITELIE

KRYSTALY

