

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА в ветеринарной медицине

«Ошибки, которые мы совершаем при
проведении и интерпретации
лабораторных тестов»

Светлана Викторовна Шишканова
в/врач-клинический патолог
заведующая НВЛ «ПОИСК»
г.Санкт-Петербург

- **Клиническая патология –**
это отдельная специализация,
требующая глубокого понимания
основ биохимии, цитологии и
гематологии

ЧТО ДОЛЖНА ВКЛЮЧАТЬ В СЕБЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНА Я ЛАБОРАТОРИЯ?

- **Высококвалифицирован
ный персонал**
- **Специализированное
оборудование**
- **Техническая
поддержка**
- **Ежедневный
внутрилабораторный
контроль качества**
- **Внешний контроль
качества**

- **Экспресс-диагностика** –
это грубый
промежуточный метод,
используемый для
постановки
предварительного
диагноза!!!

ЭКСПРЕСС- ДИАГНОСТИКА

Задачи методов экспресс- диагностики:

- Быстрота
- Простота
- Экономическая эффективность

**Точность проведенного
исследования сомнительна и
требует подтверждения!!!**

ЭКСПРЕСС- ДИАГНОСТИКА

- Золотым стандартом качества в биохимии является метод «влажной ХИМИИ»
- Метод «сухой химии» не точен и обладает большим разбросом результатов!!!

ЭКСПРЕСС- ДИАГНОСТИКА: показания

- Пациенты, находящиеся в тяжелом состоянии
- Скрининг перед операцией
- Удаленные от крупных городов клиники, когда нет возможности отправить материал в профессиональную лабораторию

ЭКСПРЕСС- ДИАГНОСТИКА: что должно быть в клинике?

- Гематокритная центрифуга
- Экспресс-биохимический анализатор (сухая слайдовая химия)
- Акку-чек
- Анализатор газов крови и кислотно-основного состояния
- Быстрые красители (Diff-Quik)

ЭКСПРЕСС- ДИАГНОСТИКА: ИХА

**Купи SNAP и будет тебе
счастье?**



ЭКСПРЕСС-

- Диагностика инфекционных заболеваний, ИХА, кровепаразитарных инфекций и эндокринологические тесты должны проводиться в профессиональных ветеринарных лабораториях!!!
- В данном случае быстрота и дешевизна теста не уместна!!



Это невозможно!?

Возможно, если ты в это веришь.

- Специфичность и чувствительность экспресс-тестов 98-99%!!!???

Недостатки теста

- Результаты определяются визуально или компьютерной обработкой отсканированного изображения
- В отличие от ИФА здесь нет специфичных контролей ни положительного, ни отрицательного. В ИХА есть только внутренний неспецифический контроль
- Возможность ложноположительных реакций

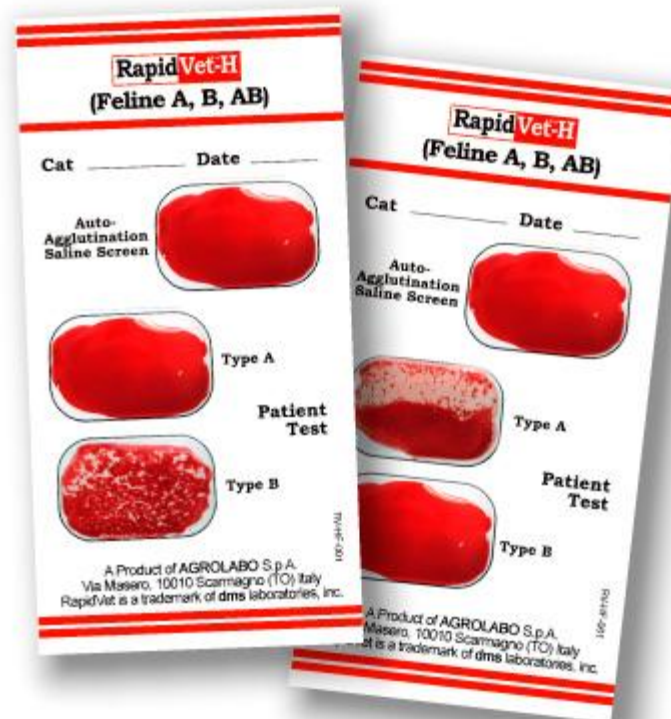
ЭКСПРЕСС- ДИАГНОСТИКА: ИХА

Диагностически важные экспресс-тесты

SNAP cpl/fpl



**Определение групп крови
у кошек. RapidVet**



ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ ЛАБОРАТОРНЫХ МЕТОДОВ

- Простота
- Доступность
- Точность
- Быстрота
- Информативность для врача

КАКИМ ПАЦИЕНТАМ НЕОБХОДИМО НАЗНАЧАТЬ ЛАБ.ИССЛЕДОВАНИЯ?

- Перед хирургическим вмешательством
- Старым животным для диагностики заболеваний, протекающих в субклинической форме (скрининг)
- Всем заболевшим животным с целью постановки диагноза или оценки тяжести патологического процесса (прогноз)
- Для оценки течения заболевания или реакции на лечение (мониторинг)

ВАЖНО!

- При назначении лаб.исследований старайтесь задать себе максимально конкретный вопрос:

«Что я хочу обнаружить?»

- Каждое лаб.исследование должно быть разумно обосновано!

2 КАТЕГОРИИ ВРАЧЕЙ С НЕПРАВИЛЬНЫМ ПОДХОДОМ

- 1 категория: «Назначу-ка все тесты по-максимуму, что-нибудь да найду!!! 😊» - много всего выявится и будет каша в голове
- 2 категория: «Кошка старая, скорее всего почечная недостаточность, назначу исследование на мочевины и креатинин и хватит! 😊» - по минимуму берем только для динамики уже известных показателей

БАЗОВАЯ ПАНЕЛЬ

■ Гематология

- ☐ Гемоглобин
- ☐ Гематокрит
- ☐ Общее количество лейкоцитов
- ☐ Общее количество эритроцитов
- ☐ Общее количество тромбоцитов

■ Биохимия

- ☐ Мочевина
- ☐ Креатинин
- ☐ Общий белок
- ☐ Альбумин
- ☐ АЛТ
- ☐ Щелочная фосфатаза

ВАЖНО!

- **Важно акцентировать внимание на необходимости определения общего количества тромбоцитов у животных перед операцией, т.к. многие пациенты (в основном собаки) могут иметь скрытую тромбоцитопению (субклиническую)!!!**

ВАЖНО!

- Помните, что прежде чем обвинить лабораторию в недостоверных результатах исследований и менять одну лабораторию на другую, убедитесь в правильности отбора и хранения материала!

НУЖНЫ ЛИ НАМ НЕКОТОРЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ?

- Использование и интерпретация биохимических показателей и алгоритмов с медицинской точки зрения далеко не всегда уместна в ветеринарии!
- Т.к. слишком много различий в метаболизме человека и животных.

СЕРДЕЧНЫЕ БИОМАРКЕРЫ (МЕДИЦИНСКИЕ)

БИОХИМИЯ

- ☐ тропонин
- ☐ легкие цепи миозина
- ☐ сердечный белок, связывающий жирные кислоты
- ☐ МВ-креатинкиназа
- ☐ натрийуретический пептид

СЕРДЕЧНЫЕ БИОМАРКЕРЫ (ВЕТЕРИНАРНЫЕ)

БИОХИМИЯ

- тропонин
- натрийуретический пептид

АСПАРТАМИНОТРАНСФЕР

АЗА (АСТ)

БИОХИМИЯ

Содержится в печени, Ег, скелетной мускулатуре

Показания к проведению теста:

- Для диагностики заболеваний печени (достаточно низкая специфичность).

При тяжелых, хрон. заболеваниях печени (микрогепатия) активность фермента может оставаться в пределах нормы

- Для выявления повреждения или некроза мышечной ткани (желательно всегда оценивать изменения уровня АСТ вместе с АЛТ и КК).

У млекопитающих определение МК не имеет диагностической ценности!

- Данный показатель имеет прогностическое значение только у птиц и пресмыкающихся

ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА

(ЛДГ)

БИОХИМИЯ

Содержится в клетках:

- Сердца
 - Печени
 - Мышц
 - Почек
 - Тонкого кишечника
 - ПЖЖ
 - Эритроцитах
- Относительно небольшое тканевое повреждение или гемолиз приведет к значительному ↑нию активности ЛДГ!
 - **Тест неспецифичен, определение данного показателя имеет сомнительную диагностическую ценность!**

ОСТАТОЧНЫЙ АЗОТ (Rest N, RN)

БИОХИМИЯ

- Это небелковый азот, т.е. то количество азотистых веществ, которое остается в крови после удаления из нее белков путем осаждения.
- Из общего количества ОА около $\frac{3}{4}$ составляет азот мочевины, а $\frac{1}{4}$ состоит из азота креатина, креатинина, мочевой кислоты, индикана, аминокислот, полипептидов, аммиака и т.д.
 - Основная масса ОА состоит из азота мочевины, в связи с чем достаточно определять только содержание мочевины!

ПРЯМОЙ БИЛИРУБИН

БИОХИМИЯ

Определение прямого и непрямого билирубина у животных к сожалению не особо эффективно, т.к. при гемолизе, болезнях печени и желчевыводящих путей отмечаются непредсказуемые колебания в содержании каждой из этих фракций (наблюдается смешанная конъюгированно-неконъюгированная гипербилирубинемия).

ГАММА- ГЛУТАМИНТРАНСФЕРАЗА

(ГГТ)

БИОХИМИЯ

- Определение ГГТ в сыворотке является мало информативным из-за низкой чувствительности!
- Как показатель холестаза сомнителен, повышается только в тяжелых случаях у собак при сильных заб.печени, холестазе.
- Это маркер алкоголизма в медицине (смотрят отношение ГГТ к ЩФ).

ГАММА- ГЛУТАМИНТРАНСФЕРАЗА (ГГТ)

БИОХИМИЯ

- **Определение соотношения ГГТ/креатинин в моче как показатель нефротоксичности!**
- ГГТ присутствует в клетках эпителия почечных канальцев
- **Показания:** оценка острого поражения проксимальных канальцев почек до наступления азотемии, снижения СКФ.

ГЛУТАМАТДЕГИДРОГЕНАЗА (ГЛДГ)

БИОХИМИЯ

- Ассоциирована с митохондриями и распределена по всей дольке печени с максимальной концентрацией в центре.
- Диагностическое значение сходно с АЛТ
- Особенно диагностически значима у лошадей (заменяет АЛТ)

АМИЛАЗА/ЛИПАЗА

БИОХИМИЯ

Содержится в:

- Селезенке
- Легких
- Почках
- 12п.к.
- ПЖЖ
- Фермент неспецифичен!!!
- Определение амилазы и липазы у кошек не имеет диагностического значения!

ЛАБ.ТЕСТЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ПАНКРЕАТИТА

БИОХИМИЯ

- **КОШКИ**

Определение
иммунореактивности
панкреатической липазы
(fpl)

- Косвенно биохимия крови:



общ.белок
альбумин
Са



амилаза/липаза (50%)
АЛТ
ЩФ
Об.билирубин

ПРИМЕР

БИОХИМИЯ

Собака с острым панкреатитом:

- Повышение амилазы и липазы
- Низкий Са
- Вторичный гепатит

ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ

БИОХИМИЯ

Причины возможных артефактов при исследовании:

- ☐ Гемолиз/хилез/иктеричность
- ☐ Анорексия
- ☐ Низкая моторика кишечника
- ☐ Усиленная перистальтика
- ☐ Синдром мальабсорбции
- ☐ Ранний возраст (щенки до 16 недель)

ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ

БИОХИМИЯ

Исследование ЖК должно
проводиться в парных пробах крови
– это обязательное условие!

ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЬ

ГЕМАТОЛОГИЯ

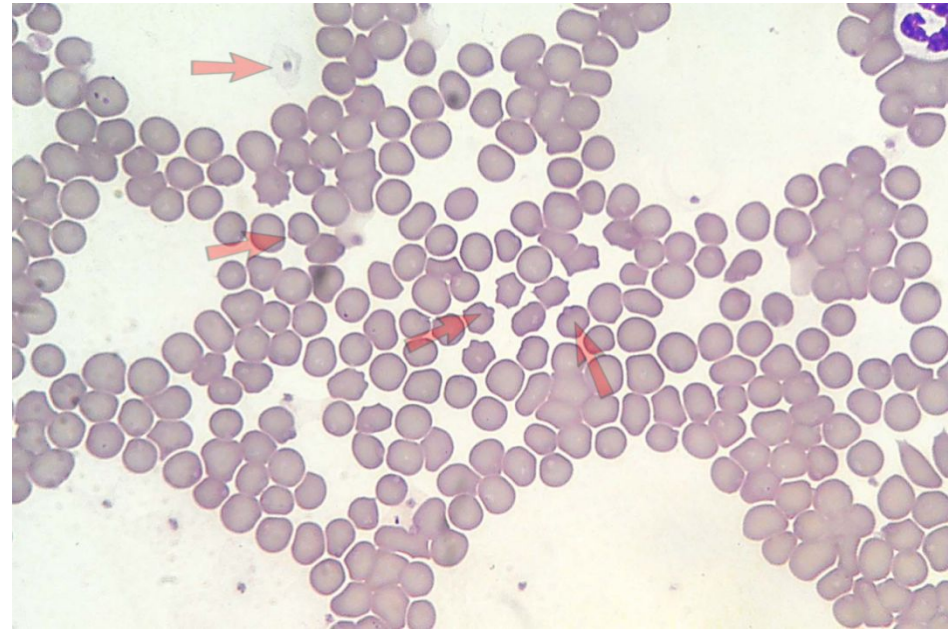
Причины ложного ↑ уровня НЬ:

- ✓ Хилез
- ✓ Гемолиз
- ✓ Наличие телец Хайнца

Липемия (хилез)



т.Хайнца



т.Хайнца - денатурированный Нb, связанный белками на поверхности мембраны вследствие окислительных процессов, особенно при поедании лука и чеснока, капусты, эндокринно при гипертиреоза, СД и лимфоме у кошек

ГЕМАТОКРИТ (Hct, PCV)

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Более точный метод определения – гематокритная центрифуга.
- У борзых (грейхаунд) и такс возможен более высокий Hct.
- У щенков и котят до 4х месяцев уровень Hb, Hct и Eг ниже, чем у взрослых!!!

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АНЕМИЯ НОВОРОЖДЕННЫХ

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Потребление молозива в первые дни жизни ($\uparrow$ объема плазмы в результате осмотического эффекта)
- Низкий уровень гемопоеза в раннем постнатальном периоде
- Короткий период жизни E γ
- Быстрый рост, сопровождающийся гемодилюцией

ГЕМАТОКРИТ (Hct, PCV)

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Уровень Hct необходимо интерпретировать вместе с концентрацией общего белка в плазме!
- Т.к. при дегидратации анемия камуфлируется из-за сгущения крови

МСН, МСНС, МСV

ГЕМАТОЛОГИЯ

- **МСV**
 - ✓ ↓ МСV и ↓ МСНС характерно для железодефицитной анемии
 - ✓ ↑ МСV и ↓ МСНС свидетельствует о регенераторном ответе костного мозга на анемию
 - ✓ **НО: Длительное хранение образца крови, не соблюдение температурного режима хранения и нарушение соотношения кровь/антикоагулянт приведет к ложному ↑ МСV!**
- МСV – средн. объем Er
 - МСН – среднее содержание Hb в Er
 - МСНС - средняя концентрация Hb в Er

АНЕМИИ

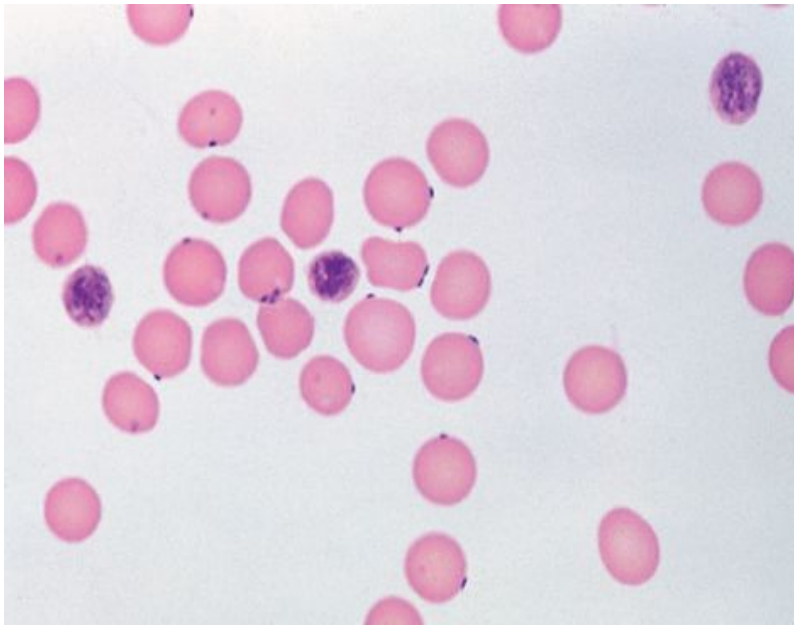
ГЕМАТОЛОГИЯ

- При выявлении анемии у животного определяем ее вид:
регенераторная/нерегенераторная
- Проводим исследование на ретикулоциты
- Если анемия регенераторная, то исследовать животное на FLV, FIV смысла нет, т.к. тогда была бы гипо- и аплазия костного мозга.
- Если кровотечение острое – будет гемоконцентрация (сгущение крови), поэтому анемию мы не увидим – делаем ОАК 3 дня подряд. Пик ретикулоцитоза на 3ий день как правило.

АНЕМИИ: регенераторная

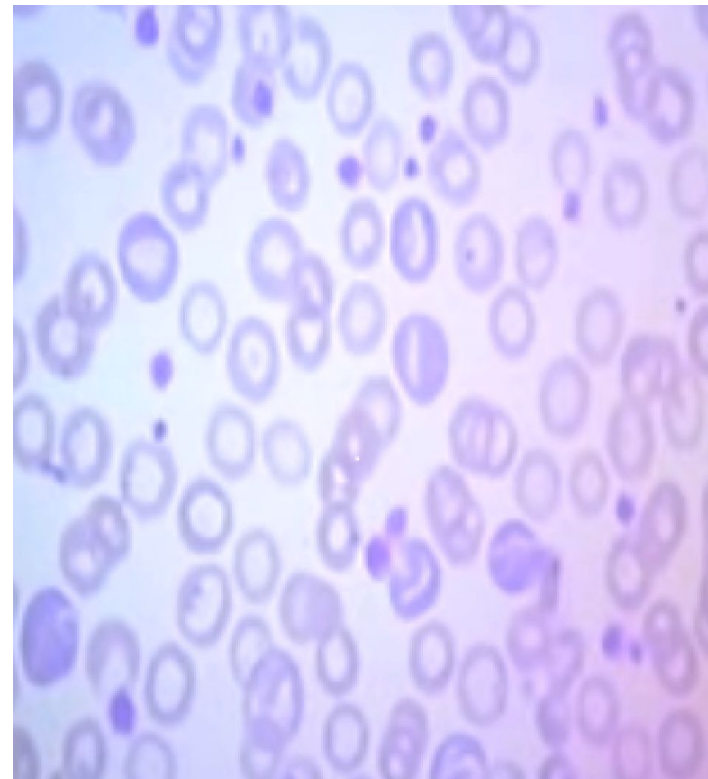
ГЕМАТОЛОГИЯ

- Гемобартонеллез кошек



- Лучше отправлять на ПЦР!

- Гипохромия, полихроматофилия, кровь собаки



- Это ретикулоциты – ответ со стороны костного мозга

АНЕМИИ: нерегенераторная

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Исключаем
 - ✓ **FelV** (избирательно угнетает именно красноклеточную линию),
 - ✓ FIV,
 - ✓ парвовирус (анемия с лейкоцитопенией и тромбоцитопенией),
 - ✓ анаплазмоз.

- Проводим исследование костного мозга

ПОЛИЦИТЕМИЯ (эритроцитоз)

ГЕМАТОЛОГИЯ

■ Относительная

- ✓ Гемоконцентрация
- ✓ Сокращения селезенки (влияние адреналина; характерно для легковозбудимых кошек, для лошадей, редко для собак, за исключением мелких пород)

■ Абсолютная

- ✓ Гипоксия
- ✓ Пребывание в условиях высокогорья
- ✓ Опухоли, продуцирующие эритропоэтин
- ✓ Н/о почек (лимфома)
- ✓ Первичный эритроцитоз
- ✓ Эндокринные заболевания

ОСНОВНЫЕ ПРИЧИНЫ НЕКОРРЕКТНОГО ИЗМЕРЕНИЯ УРОВНЯ ЛЕЙКОЦИТОВ КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

ГЕМАТОЛОГИЯ

- **Ложное завышение**
 - ✓ Большое содержание в крови ядросодержащих Eг и Eг, устойчивых к лизису
 - ✓ Наличие агрегатов тромбоцитов
 - ✓ Наличие криоглобулинов
 - ✓ Наличие парапротеинов
- **Ложное занижение**
 - ✓ Плохое перемешивание образца крови
 - ✓ Длительное хранение пробы при комнатной температуре

ПОДСЧЕТ ЛЕЙКОЦИТОВ В СЛУЧАЕ БОЛЬШОГО КОЛИЧЕСТВА ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ Er В КРОВИ

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Например:
- **$45 \times 10^9/\text{л}$** общее подсчитанное количество L на анализаторе
- **150** – общее количество L и ядросодержащих Er, полученное при подсчете лейкоформулы (из них 50 – это ядросодержащие Er)
- **100** – количество L
- **X** – скорректированное число L

$$\text{▪ } X = \frac{100 \times 45 \times 10^9/\text{л}}{150} = 30 \times 10^9/\text{л}$$

ЛЕЙКОГРАММА ВСЕГДА ДОЛЖНА БЫТЬ ПОДСЧИТАНА КАК В %, ТАК И В АБСОЛЮТНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ!!!

ГЕМАТОЛОГИЯ

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">▪ Собака, Нем.Овч., ♂, Джастин, 9 лет▪ Количество L = $40 \times 10^9/\text{л}$ (6.0-17.0)▪ Лимфоциты 7% (17-30) | <ul style="list-style-type: none">▪ Собака, Йорк.Т., ♂, Ворд, 2 года▪ Количество L = $4,0 \times 10^9/\text{л}$ (6.0-17.0)▪ Лимфоциты 70% (17-30) |
|---|--|

- Абсолютное количество лимфоцитов у обеих собак одинаковое

$2,8 \times 10^9/\text{л}$ (1,025-5,1)!!!

- Процентная лейкограмма – это промежуточная стадия для подсчета абсолютных показателей!

НЕ ДОВЕРЯЙТЕ ЛЕЙКОГРАММУ АНАЛИЗАТОРУ!

ГЕМАТОЛОГИЯ

- Ни один анализатор не способен корректно считать формулы
- Наличие бабезий и микрофилярий (миксинвазия), лейкозов анализатор ловить не способен

ВЫВОДЫ

- Интерпретируйте результаты лабораторных тестов исходя из опыта, знаний и интуиции
- Допускайте разумный скептицизм в отношении полученных результатов, не всем показателям можно верить!!!
- Всегда старайтесь решить, действительно ли в данном случае важна скорость получения результата, а не точность!!!
- Общайтесь с лабораторией!!!