



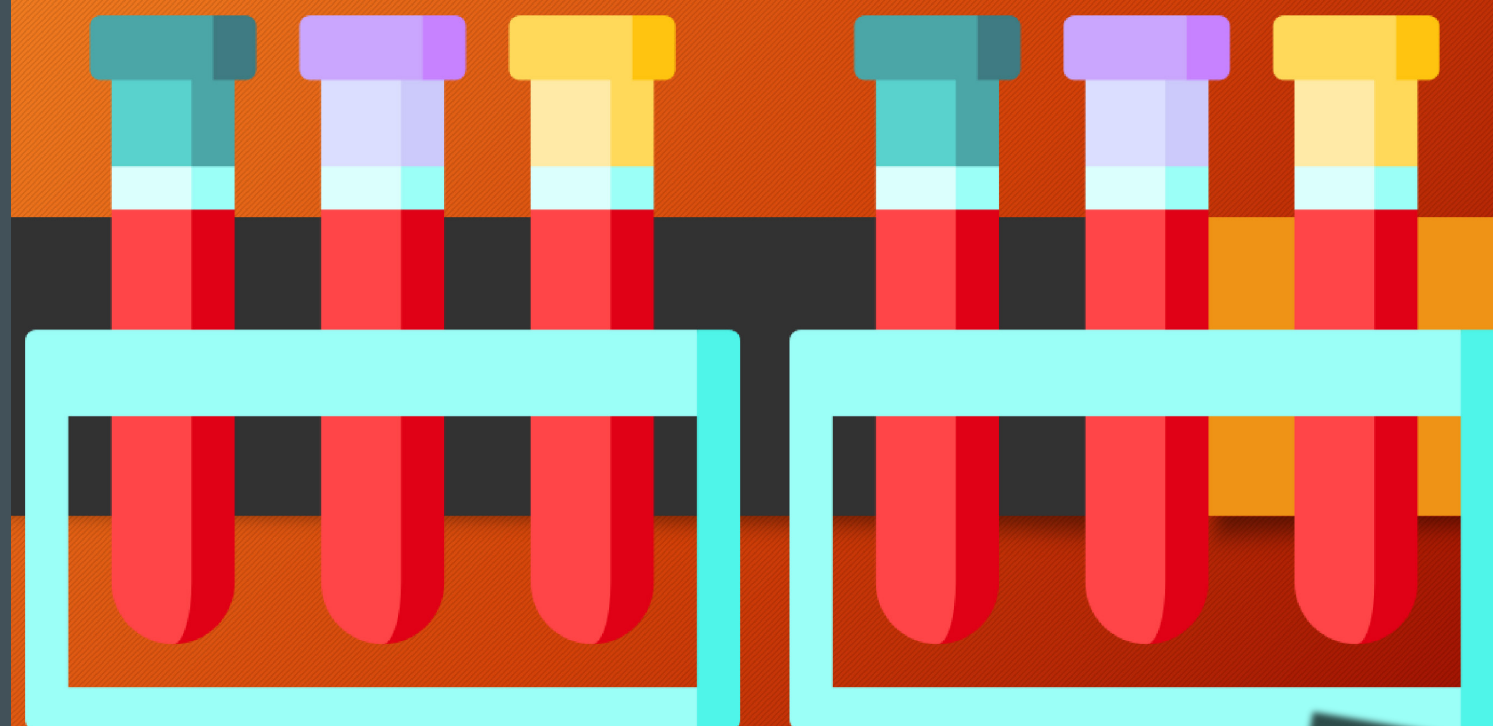
УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Проф. др Марко Цинцовић



КЛИНИЧКА ХЕМАТОЛОГИЈА И БИОХЕМИЈА ЖИВОТИЊА

М. Цинцовић – КЛИНИЧКА ХЕМАТОЛОГИЈА И БИОХЕМИЈА ЖИВОТИЊА





Проф.др Марко Цинцовић

КЛИНИЧКА ХЕМАТОЛОГИЈА И БИОХЕМИЈА ЖИВОТИЊА



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
ДЕПАРТМАН ЗА ВЕТЕРИНАРСКУ МЕДИЦИНУ**

Нови Сад, 2025.

ЕДИЦИЈА ОСНОВНИ УЏБЕНИК

Оснивач и издавач едиције
Универзитет у Новом Саду
Пољопривредни факултет Нови Сад,
Трг Доситеја Обрадовића 8, 21000 Нови Сад
Година оснивања 1954.

Главни и одговорни уредник едиције

др Ненад Магазин, редовни професор
Декан Пољопривредног факултета

Чланови Комисије за издавачку делатност

Проф. др Марица Петровић, председник
Проф. др Ивана Давидов, члан
Проф. др Зорица Срђевић, члан
Проф. др Ксенија Мачкић, члан
Доц. др Дејан Беуковић, члан

CIP

ISBN 978-86-7520-624-8

Проф.др Марко Цинцовић

КЛИНИЧКА ХЕМАТОЛОГИЈА И БИОХЕМИЈА ЖИВОТИЊА

Главни и одговорни уредник

Проф.др Ненад Магазин, декан

Уредник

Проф.др Иван Станчић, директор

Технички уредник:

Проф.др Марко Цинцовић

Рецензенти:

Проф.др Ивана Давидов, у.н.о. Патологија, Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Проф.др Зденко Каначки, у.н.о. Анатомија хистологија и физиологија животиња, Департман за ветеринарску медицину, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду

Проф.др Радојица Ђоковић, у.н.о. Ветеринарство, Агрономски факултет Чачак, Универзитет у Крагујевцу

Издавач:

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет Нови Сад

Забрањено прештампавање и фотокопирање. Сва права задржава издавач.

Штампа:

Штампарија

Тираж:

20

Одлуком наставно-научног већа Пољопривредног факултета у Новом Саду рукопис је одобрен за издавање као основни уџбеник.

Предговор

Уџбеник из Клиничке хематологије и биохемије животиња намењен је студентима додипломских али и постдипломских студија ветеринарске медицине као и свим ветеринарима, који у ветеринарској пракси имају велику потребу за правилним одабиром, мерењем и интерпретацијом лабораторијских параметара у процесу постављања дијагнозе, праћења ефеката терапије и друго. Сврха клиничке хематологије и биохемије животиња је стицање знања и вештина које ветеринара оспособљавају за: постављање индикација за одређене биохемијске процедуре, адекватно сакупљање и чување узорака, примену одговарајућих аналитичких техника и принципа, методолошку евалуацију аналитичких резултата, клиничку процену лабораторијских анализа, способност активно учешће у стручним и научним тимовима и токовима у области лабораторијске дијагностике као и спровођење мера за обезбеђење и контролу квалитета у лабораторији. Овај уџбеник омогућује да се на систематски начин усвоје знања из преаналитичке, аналитичке и постаналитичке фазе лабораторијског клиничког рада, а додатно са истоименим практикумом у ком су описане лабораторијски поступци и вештине које треба увојити чини нераскидиву целину лабораторијске медицине. Са надом да ће овај уџбеник бити користан свим читаоцима, радујемо се свим добронамерним сугестијама за унапређење наредног издања.

*У Новом Саду,
19.01.2025.*

Проф.др Марко Цинцовић

Садржај

Клиничка лабораторијска настава, наука и пракса – од патолошке физиологије до клиничке хематологије и биохемије.....	6
Организација и принципи лабораторијског рада.....	24
Принципи рада лабораторијске опреме и метода за одређивање анализата.....	38
Контрола квалитета у лабораторији.....	63
Преаналитички, аналитички и постаналитички фактори који утичу на вредност лабораторијских резултата.....	79
Дефиниција и значај референтних вредности лабораторијских параметара и интерпретација налаза.....	92
Биолошка варијабилност крвних параметара животиња и референтне вредности засноване на јединки.....	122
Процена стабилности анализата у узорцима крви.....	128
Хемолиза узорка и интерференције резултата.....	136
Употреба збирног узорка крви у процени метаболичког статуса.....	148
Екстраваскуларни узорци у ветеринарској медицини.....	156
Лабораторијска дијагностика кроз параметре.....	177
Литература.....	275

1.КЛИНИЧКА ЛАБОРАТОРИЈСКА НАСТАВА, НАУКА И ПРАКСА - ОД ПАТОЛОШКЕ ФИЗИОЛОГИЈЕ ДО КЛИНИЧКЕ ХЕМАТОЛОГИЈЕ И БИОХЕМИЈЕ

Патофизиологија и лабораторијска медицина се први пут спомињу у француској медицинској литератури средином XVI века. Патолошка физиологија проучава болесне процесе, узроке болести, механизме њиховог настанка и развоја, компензаторне процесе у организму током развоја болести, лабораторијске показатеље и параметре који указују на постојање болести, лабораторијске методе, интерпретацију клиничке слике и лабораторијских налаза код пацијената. Због свега наведеног патофизиологија је у исто време базична биомедицинска наука, али и примењена клиничка наука. Ветеринарска медицина је регулисана професија, што подразумева и регулисање курикулума на додипломским студијама ветеринарске медицине. Према националним и међународним прописима у курикулуму ветеринарске медицине мора се обавезно изучавати предмет патолошке физиологије (клиничка патологија, лабораторијска медицина). У “вештинама првог дана” које прописује ЕАЕБЕ (*European Association of Establishments for Veterinary Education* - Европска асоцијација установа за ветеринарско образовање) дефинисано је да студенти по дипломирају морају познавати етиологију и патогенезу различитих болести, да умеју да ураде и интерпретирају лабораторијске тестова и да познају основе лабораторијског рада. Због великог значаја патолошке физиологије **Међународно друштво за патофизиологију (ИСП) је донело две декларације у Пекингу (2006 године) и Шангају (2009 године)** које прецизно описују место и значај патолошке физиологије и начин реализовања наставног процеса у овој области. Због свих ових чињеница област патолошке физиологије у оквиру додипломских студија ветеринарске медицине на Департмана за ветеринарску медицину Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду је доживела значајне реформе: повећан је фонд часова из патолошке физиологије а настава је распоређена на два семестра, направљен је нови наставни материјал и објављене су књиге које омогућују континуирани рад студената и формативну процену знања, развијена је лабораторија у којој студенти активно раде, уведени су предмети везани за лабораторијске технике у патолошкој физиологији и клиничку патологију, инсистира се на примени принципа медицине засноване на чињеницама током наставног процеса, наставници константно раде у пракси и у истраживању, реализују се пројекти из патолошке физиологије али и пројекти из области унапређивања наставе, инсистира се на што бољој научној продукцији и интензивном раду са постдипломцима, у све активности су укључени студенти. Потребно је и даље радити на усавршавању силабуса и наставних метода, уз што прецизније дефинисање активности и улоге студената у наставном процесу.

Идеја о развоју патофизиологије као дисциплине помиње се још 1542.године у делу познатог француског филозофа и лекара Жана Фернела (Jean-François Fernel, Fernelius, 1497–1558) који је у свом делу “*De naturali parte medicinae*” описао да би било потребно да се развије посебна врста физиологије која изучава болесне особе. Термин патолошка физиологија помиње се 1617.године у књизи Жан де Варанда под насловом “*Tractatus de affectibus renum et vesicae*”. Прва књига из патолошке физиологије објављена је у немачкој током 1790-их година од аутора Августа Хекера (August Friedrich Hecker, 1763–1811).

Исти аутор је 1796.године покренуо је први научни часопис у овој области под насловом “*Eléments de Pathologie generale et physiologie pathologique*”. Године 1819. Аутор Лоуис Цаиллиот је објавио двотомно издање књиге под насловом “*Elements de Pathologie générale et Physiologie pathologique*”. Детаљи о историјском развоју патолошке физиологије и њеним савременим трендовима могу се прочитати у интересантном делу руског патофизиолога Леонида Чурилова.

Патолошка физиологија и лабораторијска медицина су блиско повезане дисциплине које се баве разумевањем механизма болести и њиховом дијагностиком. Патолошка физиологија проучава механизме настанка и развоја болести, укључујући промене на нивоу ћелија, ткива и органа, а ова сазнања су неопходна за развој лабораторијских тестова који омогућавају откривање и праћење патолошких процеса. Лабораторијска медицина користи биохемијске, хематолошке, имунолошке и друге анализе за откривање функционалних поремећаја. На пример, анализа крви, урина и других биолошких узорака помаже у идентификацији биомаркера који указују на болест. Лабораторијски подаци су кључни за правилну интерпретацију клиничке слике пацијента, јер без разумевања патофизиолошких механизма лабораторијски налази не би могли бити адекватно тумачени и примењени у терапији. Предмет проучавања патолошке физиологије су општи закони настанка промењених физиолошких процеса у организму, узроци њиховог настајања, механизми којим се ти процеси развијају и ток и исход тих поремећаја. Такође патолошка физиологија изучава све адаптационе и компензаторне механизме који се активирају приликом промене физиолошких процеса, а у циљу одржавања хомеостазе организма.

Патолошка физиологија је део медицине, научна дисциплина у чијој методологији доминирају поступци за препознавање узрока и механизма развоја поремећаја функције и структуре органа. Она има задатак да објасни узроке и настанак болести, промене организма у физиолошком и биохемијском смислу, када организам прелази из стања здравља у стање болести. Припада лабораторијској медицинској струци и даје неопходне и значајне податке у дијагностичким поступцима. Поред наведеног, даје објашњења о дејству етиолошких чинилаца на животињски организам, те проучава поремећаје који су заједнички за многе болести а не само за једну болест.

Патолошка физиологија и њен лабораторијски метод су повезани са клиником или клиничким предметима, односно представља везу између клиничких и предклиничких дисциплина. Разликује се од клиничких дисциплина, јер се бави променљивим биолошким процесима, који су заједнички за многе болести, а клиничке дисциплине пручавају сваку болест појединачно. Понекад је у патофизиологији потребно ради схватања комплексности патофизиолошких процеса, у животињском свету описати болести и појединачно.

Због наведеног патолошка физиологија се може посматрати као: **Теоријска-базична наука** – која има за циљ да опише механизме настанка и развоја болести од нивоа организма до субцелуларног нивоа; **Предклиничка наука** – која се бави функционалном проценом унутрашњих органа на основу биохемијских, хематолошких и других параметара захваљујући предностима медицине, дијагностике и технологије; **Клиничка наука** – чији је циљ примена додатних анализа, тумачење њихових резултата уз дату анамнезу, клиничку слику и примену терапијског поступка. Клинички приступ се још назива и клиничка патологија, а због предмета изучавања често се на називе базичних дисциплина

додаје назив клиничка (клиничка хемија, биохемија, хематологија). Такође постоји и назив **лабораторијска медицина**.

У ветеринарској медицини, патолошка физиологија подиже значај животиња од нивоа производне категорије, ка категорији пацијента, који обзиром на индивидуалне разлике захтевају и посебну дијагностику и третман. Она омогућава да се истовремено посматра здравствено стање и корист производних категорија животиња помоћу ”дијагностике у маси”, при чему се одређују и међусобно пореде параметри здравственог стања стада/јата и предлажу конкретне корективне мере на технолошком нивоу или нивоу здравственог менаџмента.

Патолошка физиологија се налази у основи модерне ветеринарске медицине. Наиме, прва висока ветеринарска школа основана је 1761. године у Лиону-Француска. Школу је основао Клод Буржела који је први увео концепт патобиологије, поредећи хуману и анималну „машину“ као сличну, па је предложио да се формира занимање „доктор за животиње“, где ће се емпиријска сазнања заменити научним утемељењика заснованим на патобиологији.

Из наведеног се намеће закључак да патолошка физиологија представља кључну карику у доношењу коначне дијагнозе у процени функционалног статуса органа и организма. Због логичности и прецизности коју она садржи кажемо да је патолошка физиологија математика медицине. По дефиницији патолошка физиологија или патофизиологија је патобиолошка наука која се бави проучавањем биолошких процеса у организму, који доводе до промена функција органа и система органа.“

Патолошка физиологија је први предмет у оквиру курикулума додипломских студија ветеринарске медицине у ком студенти детаљно изучавају дефиницију болести, етиологију и патогенезу болести, односно законе настанка болесних стања и развоја болесних процеса. О значају овог предмета говори чињеница да се налази у кору курикулума ветеринарске медицине и свих осталих биомедицинских курикулума (медицина, стоматологија, фармација). Ветеринарска медицина је регулисана професија. Регулисаност ветеринарске медицине огледа се у регулацији ветеринарске делатности (Закон о ветеринарству, Закон о добробити животиња), међународном препознавању ветеринарске професије (Закон о регулисаним професијама) и националној и међународној регулацији ветеринарског курикулума (документа која доносе ЕАЕВЕ, ОИЕ, FVE, ENQA и НАТ/КАПК). Курикулум ветеринарске медицине је стриктно дефинисан са аспекта предмета и са аспекта вештина које студенти морају имати по дипломирању, а основна директива која то регулише је европска директива 2005/36/ЕЦ и списак вештина прописан од стране ЕАЕВЕ. Према националним стандардима квалитета, потребно је за сваки студијски програм прецизно дефинисати циљеве и исходе учења и практичне вештине студената, а те вештине морају бити усвајане кроз различите предмете курикулума. У вештинама првог дана дефинисано је да доктори ветеринарске медицине на дан дипломирања знају да јасно и прецизно напишу извештај о клиничком случају, да прикупе, упакују и пошаљу узорке за лабораторијску анализу и да тумаче резултате, користе лиценцирану литературу, управљају медицинским отпадом и креирају превентивне и профилактичке програме. Када се ради о знањима које подупиру вештине прописано је да ветеринари на дан дипломирања мора да зна етиологију, патогенезу, клиничке знакове, дијагнозу и третман уобичајених болести и поремећаја који се појављују код домаћих врста. Због свега наведеног потребно је на прави начин

позиционирати и организовати предмет или групе предмета из области патолошке физиологије.

Међународно друштво за патофизиологију (енг., *International Society for Pathophysiology, ISP*) је 2002.године дефинисало патолошку физиологију као *“савремену, интегративну, биомедицинску науку засновану на основним и клиничким истраживањима која се бави механизмима који су одговорни за покретање, развој и лечење патолошких процеса код људи и животиња”*.

ИСП је на свом састанку у Пекингу 2006. године је усвојило декларацију о патофизиолошкој настави и учењу у биомедицинском курикулуму. У даљем тексту преносимо документ у целости, који представља превод изворног текста који је дао Ковач (2007) и који се налази на сајту ИСП:

“Патофизиолошка анализа, интеграција регулаторне хомеостазе и хомеодинамике телесних процеса и њихова међусобна повезаност поставља јасан приступ свеобухватној визији и потпунијем разумевању етиологије и патогенезе болести. Настали важни биомедицински принципи окупљају и клиничка и претклиничка знања и директно воде студенте на путу медицине засноване на доказима.

Брзо ширење научних сазнања повезаних са вишеструким аспектима сложеност патобиолошког феномена све више омогућава квантитативну процену релевантних процеса у оквиру целовитог телесног система. Препознавање примарних, секундарних и мање непосредних патогених механизма води ка интерно конзистентном опису природног тока болести.

Интегративно патофизиолошко подучавање/учење повећава нагон ученика да стекне и задржи теоријска, практична и употребљива знања/компетенције. Интеграција доводи до бољег разумевања, задржавања знања, као и уважавања хијерархије механизма болести (молекуларних, биофизичких, субћелијских, ћелијских, органских, системских, епидемиолошких) и синтетичког приказа морфолошког, биохемијског, генетског и клиничког знања.

Одрживе реформе биомедицинских курикулума треба да поштују и спроводе одговарајуће патофизиолошке стратегије подучавања/учења. ИСП препоручује да се 8% или више од укупног броја сати предавања/учења посвети патофизиолошком разматрању болести и стања као и стања пре болести. Оптимално је да се половина ових сати састоји од опште патофизиологије, која се бави заједничким појмовима, принципима и обрасцима етиологије и патогенезе.

Разумевање сложених појава укључује синтезу информација добијених из многих извора (максимални увид). Даљње разумевање постиже се вршењем, појачавањем, понављањем и сталним упућивањем на различите изворе, што доводи до све већег рафинирања и дубине перцепције (споразумна валидација). У патофизиологији ово прецизирање увида укључује препознавање и повратних чворова/петљи у процесима етиопатогенезе.

Методе које се користе у учењу патофизиологије не би требало занемарити паралелне и контекстуалне механизме и потенцијалне етиопатогенетске тачке разграничавања уз разматрање основног/доминантног патогенетског механизма. Спровођење таквих етиопатогенетских резоновања је суштински и поуздан темељ дијагностичких и терапијских интервенција као и превенције.

Усвајање интегративног приступа размишљању и стицању знања омогућава синтезу кохерентних структура из хетерогених података. Овај приступ је подједнако

релевантан за проучавање опште и специјализоване патофизиологије (нозологије), и треба га применити у оквиру различитих облика наставе / учења, као што су класични семинари, модули за учење засновани на проблемима, практичне вежбе, клиничка кружења итд.”

Међународни симпозијум за наставу патофизиологије (ИСПТ-2009) одржан у Шангају (у новембру 2009.) усвојио је следеће резолуције које преводимо у потпуности на српски језик:

“1. **Студијска мисија** – Од клиничких и основних извора информација створено је одговарајуће знање о природним патофизиолошким процесима људских болести. Циљ и опсег патофизиолошког приступа је интегрисање релевантних претклиничких и клиничких података који могу допринети дубљем разумевању стања пацијента. Разумевање етиопатогенетских путева у телу поуздан је темељ за процену дијагностичких података као и за селективну и циљану терапијску интервенцију.

2. **Академски облици** – Општа патофизиологија треба да се усредсреди на заједничке путеве етиолошких фактора и патогенетских процеса, који покривају све главне врсте телесних реакција (као што су хипоксија, стрес, шок, инфламација, канцерогенеза, поремећаји флуида и електролита итд.), Без обзира на органски систем који је укључен. И наставни планови и методологија поучавања требају бити фокусирани на етиопатогенетске кластере, гранање, паралелне путеве и саморегулаторну природу нелинеарних сложених система. Општи курс патофизиологије требао би омогућити интегративно и свеобухватно бављење постгеномским молекуларним количинама података и њихову интеграцију у класичне погледе етиологије и патогенезе. Нозологија или посебна патофизиологија појединих ентитета болести / поремећаја и патофизиологија органа и система треба да буду заједнички обезбеђени од стране стручњака са одељења за патофизиологију и појединих грана медицине. Будући да је мисија клиничке медицине директна примена знања за „враћање здравља и обезбеђивање бољег квалитета живота хронично болесних и хендикепираних особа“, основна етиологија и патогенеза су кључне за оптимално лечење и исходе. У исто време, сама нозологија је јединствен извор о клиничкој природи механизма човекове болести који доприносе општим концептима и разумевању људских телесних процеса. И нозологија и општа патофизиологија треба да посвете одговарајући временски удео предавања/учења експерименталним аспектима проблема који пружају различити модели, заједно са клиничким природним током истог проблема. Научне, дијагностичке и рачунске методологије намећу инхерентна ограничења у резултатима и подацима. Стога би свеобухватна студија патофизиологије требало да узме у обзир доступне податке, њихов интринзични квалитет и контекстуалну улогу у болестима. Преддипломско, постдипломско и континуирано образовање (и други) требало би да се придржавају истих етиопатогенетских принципа, и у садржају студија и у одговарајућим наставним облицима.

3. **Профил наставног особља** – Оптималан професионални развој академског особља у патофизиологији треба да укључује комбинацију доктора медицине, докторанда, постдокторске обуке и клиничке резиденције. Активно научно истраживање и активна клиничка пракса су предуслов и покретачка снага савременог учења/патофизиологије. Такав профил наставника може побудити учеников ентузијазам у потрази за дубљом и потпунијом разрадом клиничких проблема.

4. **Подешавање одељења** – Оптимално одељење патофизиологије у медицинској школи требало би да буде део универзитетске болнице, или треба да буде у блиској функционалној вези са њим. Састоји се од наставног и лабораторијског истраживања и

клиничке установе. Требало би да буде опремљено одговарајућом информационом технологијом и да спроводи истраживачке активности. Клинички рад и експериментална истраживања, обављена једно поред другог, окупљају два главна извора датог патобиолошког проблема. Таква институционална шема промовише синтетички поглед и интерпретацију основне етиопатогенезе.

5. **Курикуларни положај** – Управљање универзитетом, доносиоци академске политике и актери у образовању треба да буду свесни ових предности и да примењују видљивост наставног плана и програма, представе садржај предмета, одговарајуће позиционирање и распоређивање времена за патофизиологију. Настава опште и специјалне патофизиологије може помоћи у превазилажењу трајног проблема тенденције раздвајања медицинске праксе који се одвија паралелно са експоненцијалним растом научних података који имају потенцијалну важност у клиничкој медицини. Патофизиологија је природни мост који смањује растућу дихотомију.

6. **Мултидисциплинарна интеграција** – Патофизиолошка вертикална (хијерархијски ниво организованости организма), хоризонтална (од различитих органских система) и лонгитудинална (упућивање на време у природној историји) интеграција хетерогених података и релевантни односи стварају поуздан референтни оквир за процену болести. Широка интеграција побољшава квалитет клиничке интерпретације. Омогућује прожимање медицине засноване на доказима у свакодневни клинички живот. Доприноси разумевању етиопатогенетских основа фармаколошких, хируршких и/или технолошких интервенција.”

Развој патолошке физиологије и лабораторијске дијагностике може се поделити према циклусима акредитације високошколских установа и студијских програма у Р.Србији. Од оснивања студијског програма ветеринарске медицине у кору курикулума додипломских студија постојао је предмет Патолошка физиологија. Организован је као једносеместрални предмет са фондом часова 3+3. У периоду од 2000-2007 факултети су имали детаљно разрађене планове и програме где је акценат стављен на садржај предмета. Планови и програми су писани детаљно до нивоа сваке методске јединице и сваког часа. Табела 1 приказује детаљан садржај силабуса из Патолошке физиологије на Департману за ветеринарску медицину.

План и програм за предмет патолошка физиологија на студијском програму ветеринарске медицине 2000.године и по допунама из 2005.године.

ПРОГРАМ ПРЕДАВАЊА

Уводни час: предмет проучавања патолошке физиологије; етиологија и патогенеза; ток и исход болести (1)

Поремећаји запремине крви: подела и патогенеза (1)

Поремећај метабилозма воде и На; механизам настанка едема (2)

Поремећаји ацидо-базне равнотеже; компензаторни механизми, патогенеза, подела, карактеристике сваког типа (2)

Хематопоеза: порекло ћелија свих крвних група и утицај цитокина на диференцијацију и матурацију (1)

Поремећај број еритроцита: а) полицитемија, подела и патогенеза б) анемије: компензацијски механизми; подела анемија; патогенеза свих облика и могућности дијагнозе уз карактеристичне налазе (4)

Поремећаји беле крвне слике: значај појединих ћелија мијелоидне и лимфатичне лозе и њихова улога у физиолошким и патофизиолошким стањима; квалитативни и квантитативни поремећаји појединих крвних ћелија; патогенеза и значај (3)

Леукоза домаћих животиња: подела и дефиниција; етиологија; значај онкогена, патогенеза, клиничка дијагноза поремећаја, значај (3)

Поремећаји хемостазе: улога и значај тромбоцита; тромбоцитопатије; поремећаји плазматских фактора коагулације крви, хемофилије, фон Вилебрандова болест, фибринолиза, тромбоза, ДИЦ (дисеминиране интраваскуларне коагулације) (4)

Акутно запаљење: етиопатогенеза (Поремећаји хемодинамике, ћелијска запаљењска реакција, хемијски посредници запаљењске реакције); исход информације (3)

Реакција домаћина на инфекцију: дефиниција инфекције, одговор акутне фазе, значај протеина акутне фазе, фебра, врсте и патогенеза грозница; септички шок, патогенеза (3)

Реакције преосетљивости: четири типа, патогенеза и последице свакога од њих (3)

Поремећаји функције респираторног тракта: рестриктивни и опструктивни са посебним освртом на патогенезу астме, емфизем плућа (сипљивост) и болести цилија; поремећаји ритма и контроле дисања, БАЛТ и његова улога, значај метаболичке улоге плућа, дистрес синдром (3)

Поремећаји кардиоваскуларног система: механизам функционисања срца; поремећаји стварања и провођења импулса; инсуфицијенција левог и десног срца; поремећаји контролног крвотока; срчане мане (семинарски рад); обољења перикарда; промене артеријског и венског пулса; могућност дијагностике; шок, дефиниција и подела, патогенеза (5)

Поремећаји функције дигестивног тракта: апетит и глад, поремећаји узимања и гутања хране, патогенеза, клинички значај, индигестије киселе и базне, патогенеза, клинички значај; поремећаји моторике и пасаже, илеус, патогенеза и значај; поремећаји егзокрине функције панкреаса; етиологија, патогенеза. Поремећаји варења и ресорпције (4)

Поремећаји функције јетре: иктеруси, етиологија, патогенеза, значај, диференцијална дијагностика појединих облика (предаје се на вежбама због недовољног броја часова) (2)

Поремећај метаболизма калцитриола хормона Д, Ца, Мг, и П: рахитис, остеомалација, остеопороза, пуерперална пареза; етиологија и патогенеза поремећаја (3)

Поремећај метаболизма угљених хидрата; улога хормона у хомеостазе; дијабетес, типови, патогенеза, клиничка слика, могућност дијагностиковања; кетоза преживара, патогенеза, дијагноза (3)

Поремећаји метаболизма масти: улога хормона у метаболизму масти; гладовање, маразам, гојазност, патогенеза; поремећаји липопротеина крви (ВЛДЛ, ЛДЛ, ХДЛ, ВХДЛ, хиломикрони), физиолошки односи, значај и функција, поремећаји, патогенеза, учесталост појављивања у домаћих животиња (2)

Поремећај метаболизма беланчевина; значај хормона; хипо и хиперпротеинемије, диспротеинемије, поремећаји метаболизма појединих аминокиселина, беланчевинске малнутриције (1)

Поремећаји функције бубрега: гломерулопатије, тубулопатије, протеинурија, уремија, нефротски синдром, патогенеза и значај (предаје се на вежбама због недовољног броја часова) (2)

Поремећаји функције ендокриног система: поремећај у лучењу хормона, рецепторски поремећаји; патогенеза и клиничке манифестације поремећаја функције (хипер и хипо) сваке од ендокриних жлезда (4)

ПРОГРАМ ВЕЖБИ

Увод у хематологију: бројање еритроцита, леукоцита, одређивање концентрације Хб, леукоцитна формула, крви размаз, хематолошки индекси (2)

Полицитемија: експериментални модел полицитемије код пацова, патогенеза полицитемије, висинска болест, полицитемија рубра вера, клиничка слика болести, одређивање Хт, Хб и броја еритроцита код полицитемије (2)

Хемолитичка анемија: експериментални модел хемолитичке анемије код пацова изазване

фенилхидразином, врсте хемолитичких анемија, патогенеза, клиничка слика одређивање броја еритроцита, концентрација Хб и Хт, ретикулоцити, хематолошки индекси (2) Акутна инфламација: експериментални модел акутне инфламације код пацова, патогенеза акутне инфламације; промене у периферној крви, крвни размаз, број леукоцита, леукоцитна формула (2) Семинарски рад (3) Протеинемија: еупротеинемија, хипопротеинемија, диспротеинемија и парапротеинемија, одређивање концентрације протеина у крви, протеинске фракције, протеини акутне фазе (2) Клинички преглед мокраће ИИ – део: протеинурија, патогенеза, клинички значај и дијагноза, посебни облици (хемоглобинурија, миоглобинурија), преглед седимента мокраће (2) Поремећаји функције бубрега: гломерулопатије, тубулопатије, уремија, нефродски синдром, патогенеза и значај. Функционално испитивање бубрега (2) Семинарски рад (3) Преглед желудачног сока: одређивање слободне и везане ХЦЛ, укупне киселости, млечне киселине (2) Поремећаји функције јетре: иктеруси, етиологија, патогенеза, значај, деференцијална дијагностика појединих облика. Функционално испитивање јетре (2) Срчане мане – семинарски рад (2) Колоквијум (2)
ПРОВЕРА ЗНАЊА
Практични део писмено или усмено и теоријски део писмено и усмено

Са започињањем акредитације високошколских студијских програма и установа у Р.Србији, од 2007.године, у силабус осим садржаја предмета потребно је било представити циљеве и исходе учења, односно шта је то што ће студенти знати, разумети, умети да интерпретирају, ураде и анализирају после савладаног предмета. Ово је био почетак модерног концепта где у ком је студент стављен у центар наставног процеса. У овом периоду наставници нису у пуном обиму разумевали значај циљева и исхода учења, па су они дефинисани веома штуро, у једној изјавној реченици.

Од 2008-2013 (када је започео други циклус акредитације) патофизиологија се и даље слушала као једносеместрални предмет. Међутим у том периоду су овај предмет почели да држе и реализују нови наставници и сарадници (аутори овог текста) и патолошку физиологију су од базичне науке организовали као клинички оријентисану науку. Разлог томе је што су наставници били дубоко свесни положаја овог предмета у укупном високом ветеринарском образовању и курикулуму. Поред наведеног наставници су пуно времена провели у изучавању циљева и исхода учења и Блумове таксономије, чиме су схватили да студенти морају понети предметно специфичне вештине и знања, а да циљеви учења морају бити у когнитивном и афективном домену. Све наведено је довело до усложњавања материје из патолошке физиологије, са једне стране и повећане тежње професора да обимну материју представе што једноставније са великим бројем примера и обавезним једноставним али моћним закључцима на крају наставе. У том периоду, наставници су приметили неке веома важне појаве које су у многome допринеле даљем развоју предмета Патолошка физиолофија. Наиме студентске оцене којима студенти оцењују наставнике и наставни процес биле су од 3,7-4,4 (у распону од 1 до 5). Наставници су добијали ниске оцене јер су брзо прелазили градиво, због великог обима градива, веома велике динамике на испиту, а највећа замерка дата је због недовољног самосталног практичног рада студената током вежби на предмету. Анализе које смо направили после неколико школских година показале су да веома мали број студената (<10%) излази на испит у јануарском испитном року (одмах после слушања испита), да до

краја школске године испит положи око 30% студената, а да велики број студената преноси Патолошку физиологију у наредну годину студија. На четвртој години студија почиње се са озбиљним радом на интерним болестима животиња, па је без положене патолошке физиологије праћење наставе и практични рад студената врло отежан. Ипак, развој наставничких компетенци и развој предмета имали су веома велико оптерећење које би угрозило даљи развој ове области, а то је веома мали фонд часова у само једном семестру, без било каквог даљег изучавања клиничких лабораторијских дисциплина касније током школовања. Због тога је у другом циклусу акредитације патолошка физиологија трансформисана у групу предмета које се слушају од треће до шесте године студија.

После 2013.године Патолошка физиологија је преведена у двосеместрални предмет, па су тако настале Општа патолошка физиологија и Специјална патолошка физиологија. Наставници су желели да раздвоје изучавање механизма и детектовање патофизиолошких маркера од лабораторијских алата који им у томе помажу, па је настао један изборни предмет који се зове Лабораторијске технике у патолошкој физиологији. Патофизиолошко разматрање клиничких симптома је од великог значаја, а то се може изучавати тек после савладане Опште клиничке дијагностике и са првим сазнањима у области интерних болести, па је на четвртој години студија понуђен предмет Клиничка патолошка физиологија. На шестој години студија изучавају се предмети Клиничка хематологија и биохемија животиња (различите врсте, сходно модулу), где се заправо студенти баве сваким појединачним крвним параметром и упознају се са преаналитичким, аналитичким и постаналитичким варијацијама вредности крвних параметара, као и са диференцијалном дијагнозом код повећане или смањене вредности неког крвног параметра. После свих реформи студенти могу бити у потпуности сигурни да ће стећи вештине првог дана које прописују различити стандарди описани у ранијим поглављима. Како би студенти били мотивисани за рад, посебан акценат је дат на правилном дефинисању циљева и исхода учења и развоју наставних метода. Наиме, како би се одржала мотивисаност студената они морају знати шта уче, али морају знати и зашто то уче и како ће то знање и вештину моћи да употребе по дипломирању. Због тога смо водили рачуна о стриктној примени Блумове таксономије и других сазнања у области психологије образовања у дефинисању циљева и исхода учења. Следе спецификације описаних предмета, које су дате у Табели.

Циљеви исходи и садржај предмета из области патолошке физиологије на додипломским, интегрисаним студијама ветеринарске медицине после реформе 2013.године

Назив предмета: Општа патолошка физиологија
Циљ предмета Предмет омогућава да студенти стекну: 1) знања о механизмима патолошког деловања различитих етиолошких фактора и карактеристикама општих поремећаја хомеостазе, метаболизма и адаптације који настају у организму и који су заједнички за поремећај здравља различитих органских система; 2) вештине примене основних лабораторијских метода у патолошкој физиологији; 3) способност тумачења патофизиолошких резултата и тумачења општег поремећаја здравља животиња.
Исход предмета После савладаног градива и положеног испита студент ће: 1) моћи да препозна, групише, наброји

и објасни опште етиолошке чиниоце и адаптационе процесе приликом постојања поремећаја здравља, 2) да објасни и повеже везу између деловања етиолошких чинилаца и здравља животиња, 3) да примени одговарајуће лабораторијске стандарде у циљу правилне дијагностике општих поремећаја здравља, 4) да на основу задатих случајева врши анализу лабораторијских резултата и изведе закључак о типу општег здравственог поремећаја који постоји, 5) да организује и прикупи све релевантне податке о деловању етиолошких чинилаца и типовима промене које у организму изазивају, 6) да оцени степен нарушености здравља животиња у складу са налазима и јачином деловања нокси.

Садржај предмета

Теоријска настава

Дефиниција и место патолошке физиологије, Патофизиологија деловања етиолошких фактора, Патофизиологија хомеостазе – општа разматрања, Патофизиологија стреса и општег адаптационог синдрома код животиња, Патофизиологија инфламације, имуног одговора и септичног шока, Патофизиологија туморске пролиферације, Патофизиологија поремећаја метабола воде, Патофизиологија ацидо-базне равнотеже, Патофизиологија поремећаја метаболизма масти, протеина, угљених хидрата и јона, Поремећај енергетског метаболизма животиња.

Практична настава

Методе лабораторијског рада у патолошкој физиологији; Преглед и анализа лабораторијских налаза код експерименталних модела опекотина, смрзавања, јонизујућег зрачења, акутног стреса; Одређивање показатеља инфламације; Одређивање параметара у септичном шоку; Главни лабораторијски налази у паранеопластичном синдрому; Дијагностика поремећаја метаболизма масти, протеина, угљених хидрата и јона.

Назив предмета: Специјална патолошка физиологија

Циљ предмета

Циљ овог предмета је да студенти стекну: 1) знања о патофизиолошким процесима који постоје код болесних стања и процеса специфичних за различите органске системе, 2) вештине примене лабораторијске методе и скрининг панеле за порцену здравља појединих органичких система, 3) способности да на основу патофизиолошких метода донесу закључак о врсти функционалног поремећаја који постоји код животиње.

Исход предмета

Када студент савлада и положи овај предмет очекујемо следеће исходе: 1) студент ће умети да укратко опише и утврди најважније поремећаје функционалног статуса појединих органа и органичких система, 2) студент ће умети да повеже промене у функционалном статусу органа са њиховим узроцима и знацима који говоре у прилог постојања поремећаја, 3) студент ће умети да примени лабораторијске методе у дијагностици поремећаја функционалног статуса појединих органа и система, 4) студент ће моћи да изведе закључак о типу и интензитету поремећаја функционалног стања на основу лабораторијских налаза пацијента, 5) студент ће моћи да упореди и повеже сличности и разлике лабораторијских анализа код различитих врста поремећаја, 6) студент ће умети да разликује основне поремећаје функције органа и система и одлучиће се за правилне процедуре за њихово доказивање

Садржај предмета

Теоријска настава

Патофизиологија поремећаја црвене и беле крвне лозе и тромбоцита; Патофизиологија поремећаја дигестивног тубуса, прецелудаца преживара, егзокриног панкреаса и јетре; Патофизиологија поремећаја респираторног система; Патофизиологија поремећаја кардиоваскуларног система; Патофизиологија поремећаја уринарног система, Патофизиологија поремећаја ендокриног система; Патофизиологија поремећаја нервног система, чула и понашања животиња; Патофизиологија поремећаја локомоторног система животиња.

Практична настава

Алгоритам дијагностике појединих органичких система – лабораторијски скрининг панели;

Лабораторијско одређивање важнијих параметара из дијагностичких панела за сваки органски систем; Анализа резултата добијених у лабораторијском раду или резултата из случајева доступних из праксе или литературе.
Назив предмета: Лабораторијске технике у патолошкој физиологији
Циљ предмета Циљ овог предмета је да студенти стекну: 1) знања о основним лабораторијским техникама у патолошкој физиологији и њиховим својствима, а то су технике раздвајања и мерења чија је примена на биолошким материјалима али и на живим животињама, 2) вештине правилне примене појединих лабораторијских техника, 3) способности анализе резултата добијених различитих лабораторијским мерењима.
Исход предмета После завршеног курса студент ће умети да: 1) уреди и прикупи материјал за различите лабораторијске анализе, 2) изведе најчешће коришћене анализе, 3) протумачи основне методолошке поступке, 4) објасни добијене резултате, 5) примени различите методе у свакодневном раду, 6) анализира резултате и грешке настале у раду.
Садржај предмета <i>Теоријска настава</i>- Место патофизиолошке-клиничке лабораторије у свакодневном раду ветеринара; Организација ветеринарске патофизиолошке лабораторије; Припрема узорак за анализу у клиничкој лабораторији; спектрофотометријске методе; електрохемијске методе; Осмометрија; Ензимске анализе; Имунихемијске методе; Сува хемија; Електрофоретске методе; Хроматографије; Технике анализе ДНА; Хематолошки аналајзери; Аутоматизација рада у лабораторији; Важније лабораторијске процедуре у дијагностици појединих болесних стања и процеса; Правилна анализа лабораторијских резултата – клиничка употребљивост дијагностичких тестова; Акредитација ветеринарске клиничке лабораторије – правилници и поступци. <i>Практична настава</i> Упознавање са основним елементима главне и помоћне лабораторијске апаратуре; Утицај лоше припреме узорка на лабораторијске резултате-значај хемолизе; Одређивање крвне слике класичним микроскопским прегледом и помоћу аналајзера; Извођење важнијих биохемијских реакција за одређивање концентрације протеина, глукозе, урее, АСТ, АЛТ мануелно и у аутоматизованом поступку; Идентификација и мерење протеина помоћу ЕЛИСА методе; Извођење електрофорезе у променљивим условима; Менаџмент лабораторијског рада и принципи аутоматизације; Студије случаја у циљу правилног тумачења лабораторијског налаза.
Назив предмета: Клиничка патолошка физиологија и лабораторијска дијагностика
Циљ предмета Циљ овог предмета је да студенти стекну: 1) знање о патофизиологији различитих интерних обољења животиња. 2) вештине препознавања основних патофизиолошких процеса у различитим обољењима, 3) способности правилне дијагностике интерних болести применом и анализом функционалних тестова.
Исход предмета После савладаног градива и положеног испита студенти ће моћи да: 1) дефинишу и опишу патофизиолошке процесе код великог броја интерних болести животиња, 2) утврде и установе диференцијалну дијагнозу на основу постојећих симптома болести и лабораторијских функционалних тестова, 3) изабери адекватне дијагностичке тесторве и конструишу етиопатогенезу поремећаја који постоји код животиње, 4) изврше анализу и класификацију лабораторијских налаза код различитих клиничких случајева, 5) дају аргумент о могућим компликацијама и исходима обољења сходно измењеном функционалн ом статусу органа и система, 6) рангирају степене компликација код различитих обољењај сходно присуству компензаторних процеса.

Садржај предмета <i>Теоријска настава</i> Клиничка патофизиологија и етиопатогенетски алгоритми настанка поремећаја хемостазе, уобличених елемената крви, дигестивног тубуса, придружених дигестивних жлезда, респираторног система, кардиоваскуларног система, уринарног система, ендокриног система, нервног система, локомоторног система животиња. <i>Практична настава</i> За све врсте поремећаја вршиће се вежбе према клиничким случајевима. За сваки случај ће бити дат увод, затим решавање етиопатогенског алгоритма, затим лабораторијски и други налази којим се тај поремећај потврђује и њихово тумачење. Анализом што већег броја патофизиолошких индикатора у различитим клиничким поремећајима студенти ће стећи сазнање о примени клиничке патолошке физиологије у свакодневном раду.
Назив предмета: Клиничка хематологија и биохемија кућних љубимаца / фармских животиња и коња
Циљ предмета Циљ овог предмета је да студенти стекну: 1) знања о хематолошким и биохемијским знацима важнијих поремећаја здравља кућних љубимаца, 2) вештине примене основних лабораторијских метода у клиничкој хематологији и биохемији, 3) способност вршења дијагностике и диференцијалне дијагностике помоћу хематолошких и биохемијских лабораторијских налаза.
Исход предмета Када студент савлада и положи испит моћи ће да: 1) дефинише и опише хематолошке и биохемијске налазе код различитих болести кућних љубимаца, 2) повеже и објасни везу између хематолошких и биохемијских поремећаја и постојања различитих обољења, 3) распознаје и процени патогномоничне лабораторијске налазе, 4) примени најважније лабораторијске технике у дујагностичком поступку, 5) оцени добијене резултате лабораторијских анализа, 6) просуди о постојању компликација и исходу болести.
Садржај предмета <i>Теоријска настава</i> Клиничка Клиничка хематологија и биохемија – хематолошки и биохемијски маркери у дијагностици важнијих поремећаја хомеостазе, болести дигестивних органа, болести респираторног система, болести кардиоваскуларног система, болести уринарних органа, болести ендокриних жлезда, болести нервног система, болести локомоторног система животиња. <i>Практична настава</i> Лабораторијско одређивање главних хематолошки и биохемијски маркери у дијагностици важнијих поремећаја хомеостазе, болести дигестивних органа, болести респираторног система, болести кардиоваскуларног система, болести уринарних органа, болести ендокриних жлезда, болести нервног система, болести локомоторног система животиња. Студије случаја и клинички примери.

На интегрисаним студијама ветеринарске медицине у последњем, 12.семестру, студенти обављају стручну праксу у трајању од 300 сати. Од тога, 150 сати је интрамурална, а 150 сати екстрамурална пракса. У оквиру интрамуралне праксе студенти обављају 20-30 сати у Лабораторији за патолошку физиологију где раде свакодневни стручни посао под надзором наставника.

Поред интегрисаних студија, на докторским студијама ветеринарске медицине у области патолошке физиологије реализује се неколико изборних предмета:

Лабораторијска дијагностика интерних болести животиња, Повезаност нервног, ендокриног и имунолошког система и Стрес и дистрес- физиологија и патофизиологија стресног одговора код животиња. Можемо констатовати да су ови предмети веома популарни код студената и од 2013.од када се реализују сваке школске године имамо заинтересоване студенте за готово све предмете.

Од 2020.године на Департману за ветеринарску медицину реализују се и Специјалистичке академске студије, где постоји два предмета из области клиничке патологије, који се баве лабораторијском дијагностиком и патофизиолошким интерпретацијом поремећаја здравља животиња и то су: Клиничка патологија и дијагностика болести животиња и Клиничка патологија и дијагностика поремећаја метаболизма животиња.

Студенти се током предиспитног периода док се реализује настава активно баве наставним материјалом и учествују у наставном процесу на предметима из области патолошке физиологије, што резултира стицањем искустава током учења и различитих знања, чиме се умањује стрес и повећава успех приликом полагања завршног дела испита. Због тога смо развили **наставне методе** такве да студенти током школске године прођу и активно користе целокупну литературу, без тенденције да их терамо да уче просту репродукцију материјала и чињеница. На општој и специјалној патолошкој физиологији студенти слушају класична предавања. Предавања су подељена у мање целине. Увек се води рачуна о принципу да им се каже о чему ће бити речи, затим да им се то и каже и на крају да им се кроз закључивање каже шта је то што им је речено током предавања. Студенти сваког тренутка могу да прекину професора и поставе питање које желе, а радо препоручујемо студентима да воде белешке. Постављање питања је поуздан знак да се у студентима одвија мисаони процес током изођења наставе. На вежбама студенти током теоријског дела наставе имају практикум и збирку где питања у њима прате слајдове презентација и динамику излагања и дужни су да одговоре на питања у практикуму и збирци. На тај начин студенти постају активни слушаоци. Са развојем мобилних телефона, преко интернет платформи саставили смо интерактивна питања која се активирају током наставе и на које студенти одговарају, па им се у реалном времену оцењује знање и сакупљају бодови. Током наставног процеса активно им је чуло слуха, чуло вида и моторича руку, тако да су шансе за развој трајних синапси много веће него да су пуки слушаоци. Ипак, фреквенција постављања питања не сме бити пречеста како не би угушила наставни процес и развој мисаоног тока код студената, а питања се односе на препознавање материје о којој се говори. Приликом рада на апаратима у Лабораторији за патолошку физиологију студенти пролазе детаљну обуку, а у практикуму из лабораторијских техника описано је сликовито и детаљно корак по корак све од провере пре паљења апарата, самог паљења, до извођења тестова, правилног исписа резултата, гашења апарата и провера по гашењу. Студенти увек и на сваком часу имају литературу са собом и активно је користе. У будућности ћемо направити посебне онлине платформе које симулирају рад на апарату и припрему узорака, па ће пре мауелног рада студенти проћи кроз период симулације, како би утврдили своје процедурално знање.

Током анализе клиничких случајева користе се случајеви са наше клинике, случајеви из збирке случајева, као и прикази случајева из светске литературе. Тумачење случајева врши се применом интегративне патофизиологије, уз постављање различитих алгоритама и познавање патофизиолошких чворова. Приликом анализе, а посебно приликом интерпретације случајева водимо рачуна да се користе савремене методе

“evidence based veterinary medicine” које уче како да се помоћу PICO/CAPO система правилно поставе питања и нађу адекватни одговори. Да би студенти могли да несметано раде на својим случајевима морају усвојити одређене дигиталне компетенце, које стичу кроз рад са наставницима на предмету. Поред наведеног, трудимо се да током изучавања оног дела патофизиологије који се бави процедуралним знањима из области лабораторијске медицине студенти схвате да је бављење лабораторијом озбиљан посао и да морају имати и развијене предузетничке вештине, што значи да морају понудити праву услугу на прави начин, односно понудити прави дијагностички панел тестова у правом моменту.

PICO CAPO систем питања представља методолошки приступ који се користи за формулисање јасних, специфичних и клинички релевантних питања у истраживању и пракси, а посебно је користан у ветеринарској и људској медицини, јер омогућава прецизно дефинисање проблема, идентификацију релевантних доказа и примену налаза у клиничкој пракси; овај систем укључује осам елемената: Пацијент/Популација (Patient/Population), којим се описује популација или пацијенти о којима се ради, на пример пси са хроничним бубрежним обољењем; Интервенција (Intervention), која подразумева терапију, дијагностички тест, процедуру или стратегију коју желимо да истражимо, као што је примена дијететске исхране са ниским садржајем протеина; Поређење (Comparison), односно алтернативу интервенцији која се разматра, на пример уобичајену исхрану; Исход (Outcome), који представља резултат који желимо да меримо или проценимо, попут смањења концентрације SDMA у серуму; Контекст (Context), који се односи на специфичне услове у којима се истраживање спроводи, као што су ветеринарске клинике у урбаним подручјима; Анализу (Analysis), која укључује процес обраде података ради процене резултата, као што је статистичка анализа ефикасности дијете; Перспективу (Perspective), која обухвата гледиште кроз које се разматра питање, као што је перспектива власника у односу на квалитет живота љубимца; и Циљеве (Objectives), који се односе на специфичне циљеве истраживања, попут процене дугорочног утицаја дијететске исхране на квалитет живота, што се све може илустровати примером питања: „Да ли примена специјализоване дијететске исхране са ниским садржајем протеина у односу на уобичајену исхрану побољшава исходе код паса са хроничним бубрежним обољењем, узимајући у обзир квалитет живота из перспективе власника у урбаним условима, а резултати се мере концентрацијом SDMA и општим здрављем током годину дана?“, овакав приступ омогућава структурирано и циљано разматрање сложених клиничких питања и значајно унапређује примену истраживачких налаза у пракси.

Студенти два пута у току семестра имају тест који укључује сву материју са предавања и вежби и на ком могу да користе целокупну литературу коју имају. Циљ ових тестова је да студенти науче да активно читају литературу и да у моменту спремања за завршни испит имају развијене мапе у глави где се шта од материјала налази. На тим тестовима се води рачуна да буду заступљена питања тако да се оцењује свих 6 нивоа исхода исхода учења према **Блумовој таксономији** (балансирају се питања које показују студентско знање, разумевање, примену, као и способност анализе, синтезе и евалуације). Поред ових питања које спадају у процену когнитивног домена, у нешто мањој мери су присутна и питања афективног домена, односно домена емоционалних одговора, где се испитује да ли је ученик усвојио неку идеју, да ли уме да је вреднује и да ли је развио сопствене начине одлучивања и моделе понашања на основу вредности које је усвојио.

Студенти су у појединим генерацијама обавезно, а у појединим по жељи, требали да напишу и презентују семинарски рад, чија је тема таква да има за циљ продубљивање знања из области која се предаје. Семинарски радови су припремани из оригиналних истраживања до сада публикованих радова. Овде су студенти учили елементе академског писања, а посебно смо се трудили да повећамо читалачку писменост код студената, која подразумева: а) способност проналаска информација применом различитих медија и њихово разумевање и критичко промишљање, б) властито изражавање, обликовање мисли и идеја у писани текст као производ прочитаних садржаја; в) разумевање, коришћење и промишљање о писаним текстовима ради личних циљева, стицања и развијања знања и целоживотног учења.

После завршеног семестра и скупљања предиспитних бодова студенти могу да изађу на завршни испит. На завршном испиту питања се добијају из постојеће литературе, али се она не може користити на испиту. Испит се састоји од теста (питања вишеструког избора из наше збирке), практичног дела (најчешће се полаже писмено постављањем питања за процену вештина и знања која се налазе у оквиру приручника и практикума) и на крају усмени испит који се припрема из уџбеника, а постоји списак питања за полагање усменог дела испита. Пре него што студент изађе на завршни усмени испит, наставници се обавештавају о његовим особинама кроз анализу ВАРК теста о стловима учења, успешности прилико одговарања на различите врсте питања и на основу квалитета знања показаног на писменом и практичном делу завршног испита. Ово је веома значајно јер на тај начин можемо предпоставити на којим питањима и код које врсте градива студенти могу имати проблем у излагању и интерпретирању, па на тим критичним рачкама се трудимо да помогнемо студенту. Неуспешност полагања завршног усменог испита је врло мала, јер када студент савлада целокупну материју пре тога, онда му остаје само да та знања лепо уобличи и изложи на усменом испиту. Студенте на усменом испиту дисквалификује ако не умеју да дефинишу основне појмове и патофизиолошке процесе, што је елементарни ниво знања, па се онда не можемо пети даље на Блумовој лествици исхода учења. Због жеље да студента подржимо на завршном испиту, да му расветлимо одређене делове градива или нешто поједноставимо, испит је постао једно од места где студенти још увек могу активно да уче материју од наставника, а не само да дају одговоре на питања.

Са развојем молекуларних метода, метода протеомике, геномике и других које су значајно продубиле знања о бројним болесним процесима и стањима, у будућности ће бити потребно додатно продубљивање и проширивање наставног градива за припрему испита из патолошке физиологије. Ово је посебно важно јер све методе које су данас нове и софистициране у скорој будућности ће постати широко доступне и рутинске, па је важно да се тачно на време иновирају наставни садржаји и побољшају наставне методе. Ово се не сме десити прерано или као резултат тога што наставници прате савремена научна достигнућа. Свако достигнуће у науци да би ушло у наставни процес на додипломским студијама мора дочекати фазу примене и тек онда као јасно и рафинисано знање ући у курикулуме. Разлог томе је што ми школујемо докторе ветеринарске медицине као будуће стручњаке у пракси. Сасвим друга ствар је када су у питању докторске академске студије, где се потпуно дубински и детаљно допуњава садржај наставног материјала са најновијим истраживањима, јер су докторанти млади истраживачи који ће створити нова научна знања.

Универзитетски професор предаје у области којом се практично бави и коју истражује, што је нераздвојива целина. Због тога је потребно да, поштујући принципе Хумболтовског концепта универзитета, наставници подједнако раде наставне, научно-истраживачке и стручне-практичне. Ово је посебно неопходно у биомедицинској области, којој припада и ветеринарска медицина, где активно извођење наставе без предходног доброг познавања материје и искуства наставника у пракси може смањити квалитет наставе, а може бити и опасно. Зато је развијена *Лабораторију за патолошку физиологију која пружа лабораторијске услуге* клијентима факултетске ветеринарске клинике, али и свих других ветеринарских субјеката који узорке крви, урина или других материјала шаљу у лабораторију на анализе. Поред наведеног велики број узорака крви са фарми говеда, свиња, оваца и коза свакодневно пристиже како би се одредио метаболички профил и хранидбени и здравствени статус јединки. Велики број узорака потиче из огледа и експеримената које спроводе истраживачи са новосадског али и других универзитета у Србији који своје анализе раде у нашој лабораторији. Рад лабораторије дефинисан је посебним правилником и она је регистрована у Управи за ветерину Министарства пољопривреде Србије.

У оквиру Лабораторије за патолошку физиологију реализовано је више од 20 завршних радова и докторских дисертација. У целокупан практични рад су укључени наставници са предмета патолошка физиологија, а поред извођења анализа, свако у својој области врши интерпретације налаза и даје препоруке за даље поступање. Од 2017.године до краја 2024. године лабораторија је извршила преко 120.000 анализа. У блиској будућности завршићемо акредитацију лабораторије према најсавременијим ISO стандардима. Тренутно радимо унутрашњу и спољашњу контролу квалитета, где постижемо веома добре резултате са аспекта тачности и прецизности изведених анализа.

У оквиру лабораторије редовно се одржавају континуиране едукације ветеринара из области лабораторијске медицине и патолошке физиологије. Наставници на Патолошкој физиологији су били предавачи по позиву на преко 20 домаћих и међународних скупова. Наставници су учествовали у преко 15 комисија за избор у звање наставника и сарадника.

Следећи значајан аспект је научно-истраживачки рад наставника на области патолошке физиологије. Наставници на предмету патолошка физиологија спадају у ред веома продуктивних наставника. Од 2008, када су преузели област патолошке физиологије наставници су објавили велики број научних радова и то: преко 70 радова са SCI листе, преко 200 радова у националним часописима, преко 450 радова на скуповима, 20 научних књига и монографија и 5 техничких решења. Сprovedено је више од 15 научних пројеката, који су били ЕУ, билатерални, мултилатерални или национални пројекти. О обиму продукције квалитетних научних радова међународног значаја на Департману за ветеринарску медицину Пољопривредног факултета у Новом Саду говори и чињеница да се Универзитет у Новом Саду налази међу 300 најбољих на свету у области ветеринарске медицине на престижној Шангајској листи за 2018. и 2019. годину. Тренутно наш Пољопривредни факултет свеукупно заузима добре позиције на Шангајској листи у области којој припада.

И на крају, наставници на области патолошка физиологија су обављали или тренутно обављају различите функције у оквиру Пољопривредног факултета и Универзитета у Новом Саду, што у многоме помаже да се сагледа шири контекст развоја области ветеринарске патолошке физиологије у будућности. Потребно је стално

усавршавати наставне методе у којима ће студент решавајући одређене задатке постати центар наставног процеса, а са друге стране наставници морају припремати наставу и износити градиво на тај начин да у студентима пробуде њихову унутрашњу мисаону активност. Тако добијамо квалитетне, мислеће докторе ветеринарске медицине, који су спремни да разумеју и лече болести, али и да својим укупним радом постану незаобилазна карика у друштву.

Током наставе је потребно да студенти знају које активности морају имати шта је то што морају завршити током трајања наставе. Потребно је периодично пратити студенте и објављивати на које делове рада би требали да се усмере. Помоћ студентима или групама који заостају у раду је неопходан.

Увести студенте у лабораторијски рад кроз кратак, али добро организован преглед важних концепата за тренутни предмет и лабораторијске процедуре које ће помоћи студенту да успешно заврши експеримент. Неопходно је да се објасне основни принципи рада са јасно наведеним писаним смерницама који се налазе у практикуму или приручнику. Не треба сувише детаљно давати смернице, јер то смањује мотив студената да самостално уче пре самог рада и усвоје знања потребна за практиковање одређених вештина у лабораторијском раду.

Лабораторијске демонстрације се врше на почетку часа, када се показују кључне технике или опрема или се дају инструкције за руковање специјалним материјалима. Демонстрације се врше тако да сви студенти могу да виде и чују. Демонстрација се држи кратко, уз фокус на кључне термине и функције које су у процедури. Свака случајно или намерно направљена грешка у раду током демонстрације је инструктивно важна ако се детаљно опише студентима како је настала, које су последице и које су корективне мере.

Корисно је, а честно и крајње неопходно пружити визуелну подршку за кључне информације које су дате усмено, па треба организовати информације на табли (одређене процедуре, формуле, критичне тачке).

Студенти морају да вежбају у реалном окружењу, па је потребно да буду детаљно упознати са лабораторијским упутствима и процедурама.

У овом делу рада студенти раде са стандардним серумима, растворима или крви, па је могуће испитати да ли и у којој мери постоји утицај рада студента на вредности одређених параметара из крви, што може бити корисно јер се ретроактивним разговором може утврдити где је студент грешио уколико је добио огромно одступање у вредности неког параметра.

Елементи наставног процеса у клиничком лабораторијском раду

Циљеви наставе	Пре наставе	Током наставе	После наставе
Развити интуицију и продубити разумевање концепата. Применити појмове научене на настави у новим ситуацијама. Доживити основне појаве. Развити критичко, квантитативно размишљање. Развити експерименталне вештине и анализе података. Научити студенте да користите опрему и методе. Научите да процените статистичке грешке и препознате системске грешке. Развити вештине извештавања (писане и усмене). Решавање проблема у групном раду. Подстицати радозналост и креативност дизајнирањем процедуре за тестирање хипотезе. Боље ценити улогу експеримента у науци. Тестирање важних закона и правила.	Да ли ћу моћи да радим у лабораторији пре наставе? Да ли сам упознат са материјалима и опремом? Који су безбедносни ризици? Да ли би помогло ако бих давао студентима материјал који истиче кључне теоријске, процедуралне и сигурносне тачке? Како могу да повежем ову лабораторију са професорским предавањем? Како могу јасно да пренесем критеријуме који се користе у оцењивању извештаја лабораторије? Какве припреме треба да уради мој студент пре него што дођу у лабораторију? Које савете могу да дам студентима, тако да могу успешно завршити лабораторијске анализе у времену које им је додељено? Да ли би било корисно ако сам демонстрирао нове технике студентима? Како ћу надгледати напредак студената у лабораторији? Где би могле постојати потешкоће у извршавању лабораторијски задатака? Која питања треба да поставим студентима да би стимулисао њихово размишљање и дубље разумевање експеримента? Како могу помоћи лабораторијским паровима / групама да добро сарађују?	Утврдите специфичне циљеве рада у лабораторији (упишите их на таблу). Припремите нацрт (на табли) лабораторијских активности. Не оклевајте да објашњавате ствари више пута. Демонстрирати нове технике студентима или малим групама. Прегледајте биосигурносне критичне тачке лабораторије. Посетите сваког студента појединачно током рада. Поставите конкретна питања студентима како бисте пратили њихов напредак током рада. Обезбедите довољно повратних информација студентима током рада у лабораторији.	Уверите се да је ваша схема оцењивања у складу са смерницом курса. Утврдите да ли су студенти разумели лабораторију. Процените да ли су многи ученици пропустили критички концепт. Оцените да ли су студенти прикупили разумне закључке из података које су прикупили. Награђивање креативне и рационалне али неконвенционалне мисли у примени принципа. Прочитајте, вреднујте и враћајте извештаје лабораторије благовремено са повратним информацијама. Помозите ученицима да се побољшају тако што им кажете како су могли боље да ураде. Давати фокусиране коментаре на одређене делове извештаја, а не на извештај у целини.

2.ОРГАНИЗАЦИЈА И ПРИНЦИПИ ЛАБОРАТОРИЈСКОГ РАДА

Врсте ветеринарских лабораторија и услови које оне треба да испуне дефинисане су **“Правилником о условима у погледу објеката, опреме, средстава за рад као и у погледу стручног кадра које мора да испуњава лабораторија”**, који је донесен на основу Закона о ветеринарству („Службени гласник РС”, бр. 91/05 и 30/10).

Услови у погледу објеката - Објекат лабораторије мора да испуњава следеће услове, и то да: 1) је изграђен од чврстог материјала, који обезбеђује термо и хидро изолацију; 2) је својим конструкцијским решењем изведен тако да не дозвољава улазак глодара, артропода и инсеката у објекат; 3) има сопствени улаз, који је одвојен од стамбеног дела објекта; 4) су подови, зидови и радне површине објекта глатки, равни, израђени од водоотпорног материјала, који се може лако чистити, прати и дезинфиковати, осим просторије намењене за смештај запослених; су подови израђени од материјала, који није клизав и изведен тако да не дозвољавају цурење течности из објекта; 5) има водовод, канализацију и грејање; 6) је прикључен на електричну и телефонску мрежу, а за потребе електронске обраде података да има рачунарску опрему: рачунар, штампач и везу са интернетом; 7) има природно и вештачко осветљење; 8) у свим просторијама и просторима, у зависности од намене, има обезбеђену одговарајућу температуру; 9) има просторије и просторе који су функционално повезани и распоредом одговарају намени и спречавају могућност унакрсне контаминације узорака, опреме, радних површина и простора, односно, који су изведени по принципу: „не уназад”; 10) има инсталирану текућу хладну и топлу воду и уређаје за прање и дезинфекцију руку; 11) има систем за одвођење отпадних вода, који се улива у јавну канализацију или непропусну септичку јаму, а изузетно отпадне воде могу да се уливају у природне реципијенте ако објекат има систем за пречишћавање отпадних вода; 12) има просторије у којима су радне површине отпорне на дејство киселина, база, органских растварача и које су отпорне на умерено дејство топлоте; 13) су намештај, полице и ормари одговарајуће израде, компактни и чврсти; 14) су сви простори у објекту, укључујући и слободне просторе између и испод радних пултова, ормара и другог намештаја доступни за лако чишћење и дезинфекцију; 15) има просторије или просторе (ормари, фрижидери и замрзивачи) у којима се држе и чувају под кључем референтни сојеви и изолати микроорганизама, који могу представљати опасност по здравље људи, животиња и биљака, опасне, запаљиве и токсичне материје, а прозори тих просторија морају бити заштићени металним решеткама. Приступ просторијама или просторима дозвољен је само овлашћеним и стручно оспособљеним лицима, о чему се мора водити евиденција; 16) у просторији у којој се врши прање и стерилизација контаминираних лабораторијског материјала има одговарајућу опрему за прање и стерилизацију лабораторијског инфективног отпада, лабораторијске опреме и прибора; 17) у свим просторијама у којима настаје лабораторијски отпад има инсталирану опрему за прикупљање комуналног отпада и посебну опрему за прикупљање инфективног отпада, односно опасног отпада; 18) на видном месту има истакнуту таблу са следећим подацима: назив лабораторије, адресу,

радно време и број телефона. Лабораторија мора у свом раду да примењује и у потпуности се придржава принципа и смерница Добре лабораторијске праксе.

Услови у погледу заједничких просторија - Ако се више лабораторија, које су организоване као једно правно лице, налазе у оквиру једног или више функционално повезаних објеката, који чине јединствену функционалну целину, те лабораторије могу имати заједничке просторије, као што су просторије: за пријем узорака, за прање и стерилизацију контаминираног лабораторијског посуђа, за припрему микробиолошких подлога, за чување микробиолошких подлога, реагенса и другог потрошног материјала и за пресвлачење лабораторијског особља са санитарним чвором.

Лабораторија, која обавља послове микробиолошке дијагностике микроорганизама и паразита опасних по здравље људи и животиња, егзотичних и аутохтоних изолата микроорганизама, који могу да се унесу у пријемчиви организам инхалацијом и изазову обољење или која обавља микробиолошку дијагностику узрочника нарочито опасних заразних болести за чији рад се захтевају посебни услови рада, може да обавља послове лабораторијске дијагностике ако има, поред услова прописаних овим правилником, одговарајући ниво заштите и заштитну и другу опрему и просторије, које испуњавају услове сигурног и безбедног рада и ако у свом раду примењује стандардне процедуре које обезбеђују безбедно руковање и рад са овим врстама микроорганизама.

Услови у погледу просторија – Услови у погледу просторија зависе од врсте лабораторије и детаљно су дефинисане у правилнику.

Лабораторија која обавља бактериолошка и миколошка испитивања клиничког материјала мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем узорака; 2) примарну обраду узорака клиничког материјала и вршење основних микробиолошких испитивања; 3) бактериолошка испитивања; 4) обављање миколошких испитивања или обезбеђен одговарајући простор унутар просторије за бактериолошка испитивања за обављање миколошких испитивања; 5) серолошка испитивања - ако обавља ову врсту испитивања; 6) молекуларно-биолошку дијагностику - ако у свом раду примењује молекуларно-биолошке технике; 7) рад са лабораторијским животињама - ако користи лабораторијске животиње у дијагностичке сврхе; 8) паразитолошка испитивања - ако обавља паразитолошка испитивања; 9) микробиолошка испитивања хране за животиње -ако обавља микробиолошка испитивања хране за животиње; 10) прање и стерилизацију контаминираног лабораторијског посуђа и прибора; 11) припрему микробиолошких подлога; 12) чување микробиолошких подлога, реагенса и другог потрошног материјала; 13) пресвлачење лабораторијског особља са санитарним чвором и 14) смештај лабораторијског особља.

Лабораторија која обавља вирусолошка и серолошка испитивања клиничког материјала, мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем узорака; 2) примарну обраду узорака клиничког материјала; 3) обављање вирусолошких испитивања; 4) идентификацију и детерминацију вируса; 5) обављање серолошких испитивања; 6) молекуларно-биолошку дијагностику - ако у свом раду примењује молекуларно-биолошке технике; 7) рад са лабораторијским животињама - ако користи лабораторијске животиње у дијагностичке сврхе; 8) смештај и чување хемикалија, дезинфицијенаса, реагенса и другог потрошног материјала; 9) прање и стерилизацију контаминираног лабораторијског посуђа и прибора; 10) пресвлачење лабораторијског особља са санитарним чвором и 11) смештај лабораторијског особља.

Лабораторија која обавља паразитолошка испитивања клиничког материјала мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем узорака; 2) обраду узорака и обављање паразитолошких испитивања; 3) прање и стерилизацију контаминираних лабораторијског посуђа и прибора; 4) пресвлачење лабораторијског особља са санитарним чвором и 5) смештај лабораторијског особља.

Лабораторија која обавља микробиолошка испитивања хране за животиње мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем узорака; 2) примарну обраду узорака и вршење основних микробиолошких испитивања; 3) бактериолошка испитивања; 4) обављање микробиолошких испитивања или обезбеђен одговарајући простор унутар просторије за бактериолошка испитивања за обављање микробиолошких испитивања; 5) рад са лабораторијским животињама - ако користи лабораторијске животиње; 6) прање и стерилизацију контаминираних лабораторијског посуђа и прибора; 7) припрему микробиолошких подлога; 8) чување микробиолошких подлога, реагенса и другог потрошног материјала; 9) пресвлачење лабораторијског особља са санитарним чвором и 10) смештај лабораторијског особља.

Лабораторија која обавља микробиолошка испитивања безбедности хране (члан 9), мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем узорака; 2) примарну обраду узорака и вршење основних микробиолошких испитивања; 3) сензорна испитивања; 4) бактериолошка испитивања; 5) обављање микробиолошких испитивања или обезбеђен одговарајући простор унутар просторије за бактериолошка испитивања за обављање микробиолошких испитивања; 6) молекуларно-биолошку дијагностику - ако у свом раду примењује молекуларно-биолошке технике; 7) рад са лабораторијским животињама - ако користи лабораторијске животиње; 8) паразитолошка испитивања; 9) за прање и стерилизацију контаминираних лабораторијског посуђа и прибора; 10) за припрему микробиолошких подлога; 11) чување микробиолошких подлога, реагенса и другог потрошног материјала; 12) пресвлачење лабораторијског особља са санитарним чвором и 13) смештај лабораторијског особља.

Лабораторија која обавља хемијска испитивања безбедности хране и хране за животиње мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем узорака; 2) припрему и хомогенизацију узорака (млевењем) ради хемијских испитивања; 3) дигестију и минерализацију узорака; 4) мерење; 5) централну хемијску лабораторију; 6) спектрофотометрију; 7) атомску апсорпциону спектрофотометрију (ААС) - ако обавља ову врсту испитивања; 8) кућицу за гасове за ААС, гасну хроматографију - ако обавља ову врсту испитивања; 9) течну хроматографију - ако обавља ову врсту испитивања; 10) гасну хроматографију - ако обавља ову врсту испитивања; 11) прање лабораторијског посуђа и 12) смештај хемикалије, реагенса и потрошног материјала.

Лабораторија која обавља **биохемијска испитивања клиничког материјала** (члан 11), мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем узорака; 2) обраду узорака и вршење биохемијских испитивања; 3) прање и стерилизацију контаминираних лабораторијског посуђа и прибора; 4) чување реагенса и другог потрошног материјала; 5) пресвлачење лабораторијског особља са санитарним чвором и 6) смештај лабораторијског особља.

Лабораторија која обавља радиолошка испитивања садржаја радионуклида у узорцима хране животињског порекла, хране за животиње и воде за напајање мора да има следеће просторије, и то за: 1) пријем и припрему узорака; 2) прање лабораторијског прибора и посуђа; 3) нискофонску лабораторију; 4) обраду резултата и 5) чување узорака.

Лабораторије овог правилника морају да имају на улазним вратима просторија истакнут знак упозорења присутног биохазарда, као и следеће податке: натпис: „Приступ дозвољен само лицима запосленим у лабораторији”; означен ниво биолошке сигурности; име и презиме лица одговорног за рад у лабораторији; број телефона на који се може позвати дежурно или одговорно лице.

Услови у погледу средстава за рад - Лабораторија, у зависности од врсте и обима послова које обавља, мора да има одговарајућу врсту опреме, утензилије и уређаје, који обезбеђују несметано и безбедно извођење лабораторијских испитивања, утврђене у складу са актом о акредитацији и обухваћеним обимом акредитације. Лабораторија мора да има опрему, утензилије и уређаје који у погледу техничких карактеристика, распореда инсталације, намене, начина коришћења и техничког одржавања задовољавају одговарајуће стандарде. Лабораторија мора да има, у зависности од нивоа биолошке сигурности, врсте делатности коју обавља и врсте микроорганизама које испитује, одговарајућу заштитну опрему и успостављене процедуре за безбедан рад запослених и спречавање могућности њиховог инфицирања, као и процедуре за спречавање изношење инфективних агенаса и штетних материја изван лабораторије. Лабораторија мора да има и опрему за гашење пожара, као и опрему за пружање прве помоћи.

Услови у погледу стручног кадра - Лабораторија која обавља бактериолошка и миколошка испитивања клиничког материјала, лабораторија која обавља микробиолошка испитивања хране за животиње, лабораторија која обавља вирусолошка и серолошка испитивања клиничког материјала и лабораторија која обавља паразитолошка испитивања клиничког материјала у погледу стручног кадра мора да има: 1) у сталном радном односу лице одговорно за заступање, односно одговорно за организацију послова, надзор над спровођењем процедура рада, извођење метода лабораторијских испитивања и издавање лабораторијских резултата које има завршен факултет ветеринарске медицине, лиценцу за обављање ветеринарске делатности и завршене постдипломске специјалистичке, магистарске или докторске студије из области микробиологије и имунологије; 2) у сталном радном односу најмање једно лице са завршеном средњом ветеринарском школом, средњом школом микробиолошког смера или средњом школом смера лабораторијски техничар.

Лабораторија која обавља микробиолошка испитивања безбедности хране мора да има: 1) лице одговорно за заступање или лице одговорно за организацију послова, надзор над спровођењем процедура рада, извођење метода лабораторијских испитивања и издавање лабораторијских резултата које у погледу стручних квалификација има завршен факултет ветеринарске медицине, лиценцу за обављање ветеринарске делатности и завршене постдипломске специјалистичке, магистарске или докторске студије из области микробиологије и имунологије или хигијене хране животињског порекла или медицински факултет или природно математички факултет - смер биологија или технолошки или пољопривредни факултет - смер прехранбена технологија и завршене постдипломске специјалистичке, магистарске или докторске студије из области микробиологије и имунологије или хигијене хране животињског порекла. 2) у сталном радном односу најмање једног радника за завршеним средњом ветеринарском школом, средњом школом микробиолошког смера или средњом школом смера лабораторијски техничар.

Лабораторија која обавља хемијска испитивања безбедности хране и хране за животиње мора да има: 1) лице одговорно за заступање или лице одговорно за организацију послова, надзор над спровођењем процедура рада и извођење метода

лабораторијских испитивања и издавање лабораторијских резултата које има завршен фармацеутски факултет или природно-математички факултет хемијског или физичко хемијског смера или технолошки факултет и завршене постдипломске студије из области аналитичке хемије, санитарне хемије или хемијске токсикологије; 2) у сталном радном односу најмање једно лице са завршеном средњом школом хемијског смера-лабораторијски техничар.

Лабораторија која обавља **биохемијска испитивања клиничког материјала** мора да има лице одговорно за заступање или лице одговорно за организацију послова, надзор над спровођењем процедура рада и извођење метода лабораторијских испитивања и издавање лабораторијских резултата које има завршен факултет ветеринарске медицине и лиценцу за обављање ветеринарске делатности.

Лабораторија која обавља радиолошка испитивања садржаја радионуклида у узорцима хране животињског порекла, хране за животиње и воде за напајање мора да има лице одговорно за заступање или лице одговорно за организацију послова, надзор над спровођењем процедура рада и извођење метода лабораторијских испитивања и издавање лабораторијских резултата које има завршен факултет ветеринарске медицине и лиценцу за обављање ветеринарске делатности или технолошки факултет или природно математички факултет и завршене постдипломске студије из области радијационе хигијене.

Лабораторија за патолошку физиологију представља главну клиничку лабораторију у којој се врше хематолошка, биохемијска и ендокринолошка испитивања. Студенти под надзором наставника раде са клиничким материјалом, односно њиховим дупликатима који се чувају за потребе наставе, а раде и са контролним материјалима и њиховим дупликатима. Сваки студент ће поред основних патофизиолошких принципа по завршетку студија бити обучен за рад на различитим апаратима уз примену принципа добре лабораторијске праксе. Чести су случајеви да студенти после редовне наставе остају у лабораторији да раде са млађим сарадницима и истраживачима и помажу им у редовном лабораторијском раду. Овде је битно напоменути да од 2016.године практични рад са студентима у великој мери реализује и истраживач-стипендиста Ивана Лакић, која се још од студентских дана определила за бављење патолошком физиологијом. Њено интересовање је патофизиологија инфламације код кућних љубимаца и значајно доприноси унапређењу наставе везано за ове животињске врсте.

Све до сада поменуто, литература, наставни материјали и интеракција студената и наставника морају бити међусобно прожети и живи како би могли да служе сврси, односно да створе знање. На патолошкој физиологији комбинујемо формативну и сумативну процену знања студената, односно процену знања током наставе и процену знања по завршеној настави. Поред тога, водимо рачуна да се развију све димензије знања: познавање чињеница (познавање терминологије и специфичних чињеница); концептуално знање (познавање теорија, принципа и модела); процедурално знање (знање поступака и процедура) и стицање метакогнитивног знања (учење сазнајних процеса потребних за сазнавање других знања). На све ове димензије знања примењује се шест нивоа исхода учења према Блумовој таксономији (14), па се тако конципира наставни процес и процес провере знања студената. То значи да се користе следећи типови питања и задатака: задаци који траже репродукцију, задаци који траже разумевање садржаја, задаци који траже трансфер и примену знања и ван контекста области/лекције, задаци анализе и

синтезе, задаци који траже стваралачку продукцијум задаци који траже евалуацију, аргументовано вредновање или лични став.



Поглед на Лабораторију за патолошку физиологију, на централном пулту су апарати за мерење, а око њих је место за припрему и радна места за студенте, док је пријем узорак и издавање резултата засебна просторија. У лабораторији постоји и 20 таблета, Wi-Fi конекција, као и два стабилна рачунара. Библиотека поседује преко 1000 наслова.

Лабораторија за патолошку физиологију ради у складу са правилником који је донет у складу са осталим прописима на факултету на ком се налази.

Члан 1. Лабораторија за патолошку физиологију (у даљем тексту Лабораторија) је организациона јединица Пољопривредног факултета и Департмана за ветеринарску медицину.

Члан 2. У лабораторији се спроводи:

- практична настава студената из лабораторијских предмета на студијским програмима свих нивоа студија које реализује Департман за ветеринарску медицину,
- клиничка лабораторијска дијагностика за потребе Ветеринарске клинике Департмана за ветеринарску медицину и осталих заинтересованих трећих лица,
- реализација експерименталног дела научноистраживачких пројеката,
- пријем и ангажовање стажера на обавезан стаж.

Члан 3. Послови који се обављају у лабораторији су послови из области ветеринарске медицине (шифра 75.00).

Члан 4. Назив лабораторије је „Лабораторија за патолошку физиологију“ и дефинисан је у Статуту Пољопривредног факултета.

Члан 5. Лабораторија послује у оквиру правног лица Пољопривредног факултета, а може бити регистрована код надлежног Министарства.

Организација лабораторијског рада

Члан 6. Основни циљ рада лабораторије је обука студената ветеринарске медицине **за стицање тзв. „вештина првог дана“** прописаних од стране Европске асоцијације за естаблишмент у ветеринарском образовању (ЕАЕБЕ) а које се односе на дијагностику и терапију обољења животиња.

Члан 7. Радом лабораторије управља шеф Лабораторије, кога именује Декан на предлог директора Департамента. У раду Лабораторије учествују наставници, сарадници и истраживачи изабрани у звање у одговарајућој научној области. Шеф лабораторије треба да испуњава услове и обавља послове у складу са „Правилником о унутрашњој организацији и систематизацији послова“ Пољопривредног факултета и у складу са осталим вишим актима.

Члан 8. Студенти учествују у свим облицима рада лабораторије. О обиму непосредног учешћа одлуку доноси одговорни наставник или сарадник уз учешће студената у складу са динамиком наставе и рада лабораторије.

Члан 9. Студенти имају дневник клиничке праксе у који се у делу који се односи на лабораторијски рад уписују свакодневне активности, којима су присуствовали или обављали поверене задатке у току пријема, обраде, мерења узорка или писање лабораторијског извештаја. У Лабораторији се води и посебна евиденција присуства студената у току наставног рада.

Члан 10. Лабораторија поседује писане лабораторијске процедуре, поступке и упутства, која се користе као водичи добре праксе. Процедуре, поступци и упутства су обавезни документи система квалитета. Ови материјали служе за потребе квалитета уједначеног рада у лабораторији и за потребе квалитетне наставе.

Члан 11. Организација извођења наставе у лабораторији се врши уз сагласност шефа Катедре, шефа Лабораторије и одговорних наставника на лабораторијским предметима. Распоред лабораторијског рада, смена и дежурстава доноси шеф лабораторије, у сагласности са задужењима наставника у настави и интеграцији наставног процеса и рада лабораторије.

Члан 12. У раду Лабораторије могу да учествују и студенти шесте године интегрисаних студија ветеринарске медицине, као и студенти докторских и специјалистичких студија, при чему добијају статус демонстратора, под условима предвиђеним Статутом Пољопривредног факултета.

Члан 13. Лица из претходног члана обављају помоћне послове везане за пријем и обраду узорака, уз обавезно присуство и непосредни надзор особља из реда наставника или сарадника.

Члан 14. У оквиру Лабораторије може се обављати обавезан стаж доктора ветеринарске медицине са завршеним интегрисаним академским студијама ветеринарске медицине за стручно оспособљавање и стицање услова за полагање стручног испита и добијање лиценце за обављање ветеринарске делатности код Ветеринарске коморе Србије. Одлуку о ангажовању стажера доноси Декан уз сагласност шефа Катедре и директора Департамента а на предлог шефа Лабораторије.

Члан 15. Радно време лабораторије одговара радном времену Факултета и наставном процесу у лабораторији. Редован пријем узорака се врши сваког радног дана од 9-14 часова. Код ургентних клиничких стања и хоспитализованих пацијената, а за потребе Ветеринарске клинике Департамента за ветеринарску медицину радно време Лабораторије се може променити, односно продужити и прилагодити обиму и типу посла. Пријем узорака од трећих лица се врши само у редовно радно време.

Члан 16. Узорци се примају, обрађују и издају извештаји о резултатима анализа у току редовног радног времена или наредних радних дана, у зависности од типа анализе.

Члан 17. Узорак за лабораторијске анализе се шаље уз пропратни акт „Упут за лабораторију за патолошку физиологију“ у којем су наведени: пошиљалац, адреса

пошиљаоца, врста узорка, порекло узорка, датум узимања узорка, списак тражених анализа, радна дијагноза пацијента за потребе клиничке дијагностике. Узорак без пропратног акта се може вратити пошиљаоцу, о чему одлучује стручно лице у лабораторији. На пропратном акту се уписује број лабораторијског протокола по завођењу узорка у књигу пријема узорака и ставља се потпис и факсимил овлашћеног лица да је узорак примљен.

Члан 18. Пријем узорака се врши у пријемном одељењу лабораторије увођењем у „Књигу пријема узорака лабораторије за патолошку физиологију“. По пријему узорак добија број лабораторијског протокола под којим се води током аналитичке и постаналитичке фазе и под којим се трајно архивира.

Члан 19. На основу захтева из упута, а после завођења узорка у књигу пријема издаје се радни налог (радни картон) за обраду узорка у лабораторији. Радни картон се попуњава појединачно за сваки параметар или за више параметара из једног узорка.

Члан 20. Узорак по својим карактеристикама (врста, количина, старост, паковање, избор вакутајнера и адитива, услови транспорта) мора одговарати типу анализе који се захтева. Код неадекватно узетог узорка исти се може вратити пошиљаоцу, о чему одлучује стручно лице у Лабораторији. Лабораторија издаје инструкцију о начину правилног узорковања и руковања са материјалом коју доставља заинтересованим лицима.

Члан 21. По пријему узорак се чува у одговарајућем топлотном и светлосном режиму до момента обраде. Крвни серум/плазма се издваја непосредно по пристизању узорка центрифугирањем и чува на +4°C уколико се анализе раде истог дана у фрижидеру лабораторије или се замрзавају на -20°C уколико ће се анализе радити касније (најчешће у истраживачке сврхе).

Члан 22. Анализе се раде прописаном методом у складу са протоколима и упутствима који постоје у лабораторији и по препорукама произвођача дијагностичког средства. Сва стручна лица и студенти током наставе морају изводити анализе према идентичним писаним протоколима и упутствима који се налазе у лабораторији, а које доноси шеф лабораторије.

Члан 23. По потреби стручно лице лабораторије може захтевати и додатне лабораторијске анализе и услуге других лабораторија, а реализација овог захтева се врши уз сагласност пошиљаоца.

Члан 24. На основу извршених анализа издаје се „Налаз лабораторије за патолошку физиологију“ који треба да садржи:

- Логотип Департмана за ветеринарску медицину
- број и датум лабораторијског протокола
- назив и адреса наручиоца лабораторијских услуга
- подаци о узорцима
- коришћена дијагностичка метода
- резултат извршених лабораторијских анализа (може садржати мишљење стручног лица лабораторије)
- потпис и факсимил стручног лица које је вршило анализу
- печат Пољопривредног факултета.

Члан 25. Чистоћу и хигијену лабораторије одржава техничко особље Пољопривредног факултета.

Члан 26. Вршење лабораторијске анализе у свим фазама, а посебно у фази писања лабораторијског извештаја и давања тумачења представљају независни стручни рад доктора ветеринарске медицине.

Члан 27. Шеф Лабораторије доноси упутство о: пријему и анализи узорака, начину руковања лабораторијским апаратима и хемикалија, руковању медицинским отпадом и архивирању ветеринарско медицинске документације, уз примену начела добре ветеринарске праксе. Шеф лабораторије издаје упутство о правилном узимању узорака и поступању са њима пре слања у лабораторију.

Члан 28. Стручна лица укључена у лабораторијски рад имају и свој лични печат-факсимил, са именом, презименом, титулом, стручним звањем и бројем лиценце, чији изглед и садржај прописује Ветеринарска комора Србије. Печат користе за оверу ветеринарско медицинске документације коју издају власнику или је упућују као пропратну документацију код слања узорака на анализу.

Члан 29. У Лабораторији се могу организовати и програми континуиране едукације из области ветеринарске медицине и сродних области уз сагласност шефа Катедре, директора Департмана и декана Факултета.

Члан 30. Едукације из предходног члана могу се организовати самостално или у сарадњи са другим високошколским установама, научно-истраживачким организацијама, стручним и професионалним удружењима.

Члан 31. У лабораторији постоји и посебна инвентарска листа у којој су пописана и фотографски архивирана сва материјална добра која се налазе у Лабораторији. У инвентарској листи се налазе и други подаци о опреми- серијски број, одговорно лице, трајање гаранције, време редовног или обавезног сервиса и одржавање и евиденција слања опреме на сервисирање. Ове послове шеф лабораторије може поверити одређеном стручном лицу у лабораторији.

Члан 32. У лабораторији се води евиденција потрошње свих материјалних добара укључујући реагенсе и остали потрошни медицински материјал. Евиденција се води по правилима магацинског пословања.

Члан 33. Запослени у Лабораторији су дужни да обављају радне задатке из области лабораторијске дијагностике обољења животиња из области за коју су бирани у наставно или сарадничко звање односно из области из које поседују одговарајућу специјализацију. Пријем и обрада узорака (центрифугирање и складиштење у фрижидеру) су заједничка обавеза свих запослених, а изводи је запослени који је у моменту пријема присутан у лабораторији.

Члан 34. Конзилијарни стручни састанци наставног, научног особља и сарадника Лабораторије се организују редовно или по потреби а у случају потребе за комплексном дијагностиком из више дисциплина ветеринарске медицине. Конзилијарне састанке сазива шеф Лабораторије.

Члан 35. Стручна лица из Лабораторије за патолошку физиологију имају обавезу да присуствују и активно учествују у конзилијарним састанцима које сазива управник ветеринарске клинике департмана за ветеринарску медицину.

Члан 36. На основу пружених лабораторијских услуга, а по важећем усвојеном ценовнику лабораторијских услуга лабораторија врши наплаћивање својих услуга. Предрачун односно рачун требају да садрже следеће елементе:

- број протокола и датум пријема
- податке о пошиљаоцу

- врста анализе, број узорака и цена по анализи и по узорку
- укупна цена анализе изражена без ПДВ-а
- изражен ПДВ уколико лабораторија послује у систему ПДВ-а по важећој пореској стопи.

Члан 37. Уколико се врши наплата преко рачуна Факултета предрачун се доставља рачуноводству факултета. Уколико се врши директна наплата предрачун се издаје пошљаоцу који ће услуге платити на благајни факултета. Након извршене уплате копија уплатнице се доставља Лабораторији, након чега се издају лабораторијски налази. Наплата путем интерне реализације се врши на прописаним обрасцима Факултета.

Члан 38. Финансирање рада лабораторије се обезбеђује и из сопствених прихода, буџетских средстава, донација, спонзорстава, поклона и др.

Члан 39. Услуге лабораторијске дијагностике се наплаћују од власника или држаоца животиње, по усвојеном ценовнику. Цена представља збир материјалног трошка и услуге лабораторије. Пошљаоцу материјала се издаје рачун са јединственом ценом, без навођења елемената који формирају цену.

Члан 40. **Ценовник услуга** Лабораторије одређује Савет факултета у складу са мишљењем шефа лабораторије и директора Департмана за ветеринарску медицину на почетку календарске године. У случају знатних промена цена репроматеријала, потребе за акцијским привлачењем клијената, промена ценовника се може вршити и чешће.

Члан 41. Остварени приходи Лабораторије се уплаћују на рачун сопствених прихода Пољопривредног факултета и као такви се књиже у оквиру Департмана за ветеринарску медицину на финансијској картици „Лабораторија за патолошку физиологију“

Члан 42. Сопствени приходи Лабораторије се распоређују на основу Одлуке о интерној расподели средстава на Департману за ветеринарску медицину, по „Правилнику о стицању и расподели сопствених прихода Пољопривредног факултета Нови Сад“, Статута факултета и осталих виших правних аката.

Члан 43. Умањење цене услуга ветеринарске лабораторије може се извршити у случају анализе материјала који потиче од животиња чији су власници лица запослена на Пољопривредном факултету у Новом Саду, лица на евиденцији социјалне службе, пси водичи слепих и слабо-видих особа, код великог броја узорака истог наручиоца, код службених животиње органа државне управе и локалне самоуправе, животиње из одгајивачница, фарми, золошких вртова, паркова природе и у свим околностима где постоји потписан посебан уговор регулишу послови здравствене заштите са јасним навођењем функције Лабораторије у том послу. Уговором се могу предвидети и посебне цене оваквог вида ангажовања Лабораторије.

Члан 44. На ветеринарској Клиници Департмана за ветеринарску медицину се наплаћују и услуге обављених дијагностичких лабораторијских анализа који се обављају у Лабораторији за патолошку физиологију Департмана за ветеринарску медицину, према важећем ценовнику онда када се те услуге спроводе у сврху дијагностике и терапије животиња доведених на Ветеринарску клинику. Наведена средства се уплаћују на рачун сопствених прихода Пољопривредног факултета а књиже се у оквиру финансијске картице Лабораторије за патолошку физиологију која је извршила услугу.

Члан 45. **Набавка дијагностичких средстава**, лабораторијског материјала и опреме потребних за рад се врши у складу са важећим прописима који регулишу ову област. Набавка се врши у сарадњи са Клиничком апотеком Департмана за ветеринарску

медицину. За послове набавке наведених добара Декан, формира комисију и доноси решење. Комисија за јавну набавку има најмање три члана од којих је један службеник за јавне набавке.

Одговорност запослених у Лабораторији за патолошку физиологију

Члан 46. Лица ангажована у раду лабораторије дужна су да се према имовини и опреми лабораторије односе са пажњом доброг домаћина. Сву штету на опреми и стварима насталу услед крајњег немара, запослени је дужан да надокнади.

Запослени је одговоран за штету коју на раду или у вези са радом, намерно или крајњом непажњом, проузрокује Послодавцу, у складу са законом и овим Правилником.

Ако штету проузрокује више запослених, сваки запослени одговоран је за део штете коју је проузроковао.

Ако се за запосленог из предходног овог члана не може утврдити део штете коју је проузроковао, сматра се да су сви запослени подједнако одговорни и штету надокнађују у једнаким деловима.

Ако је више запослених штету проузроковало кривичним делом са умишљајем, за штету одговарају солидарно.

Члан 47.Опрема која се користи у дијагностици се након обављене процедуре и процеса рада мора довести у првобитно стање (чистоћа, место одлагања), што је задатак корисника опреме.

Члан 48.У раду са узорцима и осталим дијагностичким материјалом запослени су дужни да се руководе начелима добре лабораторијске праксе и добре ветеринарске праксе коју је прописала Ветеринарска комора Републике Србије.

Члан 49.Запослени су дужни да обавезно дају обавештење, које је потребно пошљаоцу да би дао пристанак на предложену дијагностичку процедуре, посебно ако се процени да је неопходна измена или допуна упута који је послат.Обавештење из овог члана обухвата: опис, циљ и корист предложене дијагностичке методе; диференцијалну лабораторијску дијагнозу и прогнозу на основу налаза; даље усмеравање клиничке дијагностике и терапије; информаацију о цени лабораторијске услуге; врсту и вероватноћу могућих ризика.Обавештење даје надлежни ветеринар усмено и на начин који је разумљив пошљаоцу или од пошљаоца овлашћеном лицу, водећи рачуна о његовој старости, образовању и емоционалном стању.

Члан 50.Сви подаци добијени у току рада клинике и Лабораторије а које се односе на информације о пацијентима, власницима и свим другим аспектима рада лабораторије и клинике Департмана са којим је софтверски повезана сматрају се **пословном тајном** и не смеју се ни у којој форми достављати трећим лицима, осим у случају посебне наредбе надлежног судског органа или органа инспекције. Подаци о власницима (адреса, јмбг, број телефона, адреса електронске поште) се третирају у складу са Законом о заштити података о личности.

Члан 51.Радно ангажовање у другим установама и субјектима које се баве ветеринарском делатношћу се регулише позитивним законским прописима из домена радног права.

Члан 52.У случају не придржавања правила прописаним ових правилником према запосленом се могу изрећи мере. Шеф Лабораторије може запосленом изрећи опомену и писмену опомену. У случају теже повреде радне дисциплине и грубог кршења норми правилника, на предлог шефа Лабораторије, декан може изрећи и следеће мере: временски ограничено умањење или укидање новчаних средстава које запослени остварује на име

накнаде за рад у лабораторији, привремено искључење из процеса рада лабораторије у трајању до шест месеци и отказивање анекса уговора о раду у лабораторији уколико је потписан.

Члан 53. Поступци и правила која нису предвиђена овим правилником треба да се спроводе у складу са важећим општим и појединачним актима Универзитета и Факултета, начелима добре ветеринарске праксе који издаје Европско ветеринарско друштво и важећим кодексом ветеринарско-медицинске етике Ветеринарске Коморе Србије.

Члан 54. Измене и допуне овог Правилника врше се на начин на који је и донет. Тумачење овог Правилника и његових измена и допуна даје орган који га је донео.

Преглед анализа у лабораторији за патолошку физиологију

Биохемијске анализе	Узирак послати у вакутајнеру
Албумини	Црвени или жути чеп
Алфа амилаза	Црвени или жути чеп
Алкална фосфатаза	Црвени или жути чеп
АЛТ	Црвени или жути чеп
АСТ	Црвени или жути чеп
Билирубин директни	Црвени или жути чеп
Билирубин укупни	Црвени или жути чеп
Глукоза	Црвени или жути чеп
Глобулини	Црвени или жути чеп
ГГТ	Црвени или жути чеп
Холестерол	Црвени или жути чеп
Холестерол - ЛДЛ	Црвени или жути чеп
Холестерол - ХДЛ	Црвени или жути чеп
Калцијум	Црвени или жути чеп
Креатин киназа	Црвени или жути чеп
Креатинин	Црвени или жути чеп
ЛДХ	Црвени или жути чеп
Липаза	Црвени или жути чеп
Магнезијум	Црвени или жути чеп
Фосфор неоргански	Црвени или жути чеп
Триглицериди	Црвени или жути чеп
Укупни протеини	Црвени или жути чеп
Уреа	Црвени или жути чеп
БХБ	Црвени или жути чеп
НЕФА	Црвени или жути чеп
Хематолошке анализе	Узорак
Комплетна крвна слика са леукоцитарном формулом	Љубичасти чеп
Седиментација 1х,2х,24х	Љубичасти чеп
Ретикулоцити	Љубичасти чеп
Фибриноген	Плави чеп
ПТ	Плави чеп

аПТТ	Плави чеп
Преглед крвног размаза	Љубичасти чеп
Додатна анализа хистограма ћелија на хематолошком налазу	/
Одређивање компатибилности донора и примаоца у трансфузиологији	Серум од донора и примаоца (2хцрвени/жути чеп)+ Пуна крв од донора и примаоца (2хљубичасти чеп)
Тест осмотске и механичке отпорности еритроцита	Љубичасти чеп
Ендокринолошке анализе	Узорак
Кортизол	Црвени/жути чеп
Инсулин	Црвени/жути чеп на леду
Прогестерон	Црвени/жути чеп
Т4	Црвени/жути чеп
Тест оптерећења глукозом Инсулин х3 + глукоза х3	Црвени/жути чеп на леду х 3
Тест стимулације надбубрега	Црвени/жути чеп х 3
Кортизол х3	
Индекси инсулинске резистенције пса G:I, НОМА, QUICKI, RQUICKI)	Црвени/жути чеп на леду
Прогестерон + вагинални брис за припуст кује	Црвени/жути чеп+плочица размаз
Цитолошке анализе	
Преглед пунктата трбушне дупље	Љубичасти чеп
Преглед пунктата грудне дупље	Љубичасти чеп
Преглед пунктата зглоба	Љубичасти чеп
Испитивање карактеристика ексудата	Љубичасти чеп
Цитологија утеруса	Микроскопска плочица
Цитологија вимена	Узорак млека
Биохемијски параметри у пунктату	Погледати биохемијске параметре

Најчешћи лабораторијски профили

Профил	Прегледи у профилу	Узорак
Општи профил	Укупни протеини, албумини, глобулини, укупни билирубин, АСТ, АЛТ, АЛП, глукоза, Са, Р, Mg, уреа, креатинин, холестерол, триглицериди, алфа амилаза+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп
Пре/постоперативни профил	Укупни протеини, уреа, креатинин, укупни билирубин, АЛТ, ПТ, аПТТ, Фибриноген+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп+ плави чеп
Бубрежни профил	Квалитативни преглед урина, уреа, креатинин, укупни протеини, глукоза, Ца,П+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп+ Бочица за урин
Кардио профил	Креатинин, креатин киназа, ЛДХ, АСТ, Са, Na, K, Cl +ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп
Профил јетре	Укупни протеини, албумин, глобулин, АЛТ, АСТ, ГГТ, АЛП, директни билирубин, укупни билирубин, холестерол, триглицериди+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп

Анемија / хемолиза профил	Директни билирубин, укупни билирубин, ЛДХ+ККС+крвни размаз+анализа хистограма	Жути/црвени + љубичасти чеп
Комплетан хематолошки профил	Сви параметри из хематологије	Љубичасти+плави чеп
Енергетски биланс профил	Укупни протеини, албумини, уреа, глукоза, холестерол, холестерол ЛДЛ, холестерол ХДЛ, триглицериди+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп
Метаболички профил преживара	Укупни протеини, албумини, глобулини, уреа, глукоза, холестерол, триглицериди, НЕФА, БХБ, Са, Р, укупни билирубин, АСТ, ГГТ+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп
Пуерперална пареза / мишићни профил	Са, Р, Mg, ЛДХ, АСТ, ЦК, алкална фосфатаза, укупни протеини, глукоза + ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп
Панкреасни профил	Глукоза, амилаза, липаза+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп
Полидипсија/ дехидрација профил	Уреа, креатинин, албумин, глукоза, АЛТ, АЛП, Na, K, Cl+ККС	Жути/црвени + љубичасти чеп
Индивидуални профил са минимално 5 одабраних параметара+ККС		Жути/црвени + љубичасти чеп

3. ПРИНЦИПИ РАДА ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ОПРЕМЕ И МЕТОДА ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ АНАЛИТА

Хематолошки анализатори - Хематолошки анализатори могу се грубо поделити на два основна типа (електрични и оптички) на основу детекцијске методе. У исто време када је Coulter-ов анализатор постао комерцијално доступан, мала фабрика у Јапану успешно је развила и лансирала на тржиште нови хематолошки анализатор који се разликовао од наведеног. Борба између две врсте хематолошких анализатора није била само на тржишту, већ и правно. Након тужења од стране Coulter-а, дошло је до помирења. Ово такмичење је значајно утицало на развој данашњег хематолошког анализатора. **Coulter-ов принцип или метода подручја електричног распознавања** (енгл. Electrical Sensing Zone Method или Coulter Counter) омогућује бројање и одређивање величине честица на основу принципа електричне проводљивости. Суспензија непроводљивих честица у електролиту пролази кроз мали отвор, који је заправо мерно подручје и када честице прођу кроз отвор, долази до промене отпора између две електроде на обе стране отвора доводећи до стварања напонског импулса, који је пропорционалан запремини честице. Висина формираног сигнала је пропорционална запремини честице, а сигнали одлазе до детектора где се врши њихово бројање и квантификовање.

Доба бројача крвних зрнаца - Крвна зрнаца се рачунају на два начина: директно рачунање методом импеданце и начином капацитивност-капацитета честица. Очигледно, ова два начина су структурно слична; Промене у електричној импеданци или капацитет честица у пролазу кроз отвор је појачан и визуализован на осцило-графикон. Свака честица генерише промену импеданце или капацитет стварања сигнала. Појединачни сигнали се онда броје. Међутим, два начина се разликују по томе што метод импеданце ангажује изложену детекцијску электроду, док метод капацитивности има пластичну обложену электроду, која није добро видљива споља. Првобитни модел импеданце бројања честица има облик налик на стаклену вакумску цев и садржи платинску электроду, која се види како сија кроз стаклене цеви. Постоји отвор на доњем крају и има пречник од 100 μm . Заустављање протока ћелија крви направљена је формирањем константног протока притиска од металне живе користећи негативан притисак пумпе.

Хематолошки анализатори засновани на методи капацитивности очигледно су слични онима заснованим на методи импеданце, међутим, њихова детекцијска туба има другачији екстерни облик. Главни проблем у начину капацитивности је погоршао проток воде са ниским притиском блокирана због загађења живе. Касније, готово сви хематолошки анализатори били су засновани на методи импеданце; жива је замењена дестилованом водом и негативна пулсирајућа пумпа са непулсирајућом електричном пумпом без притиска. На почетку развоја хематологије анализатора електричног типа импеданце одређен РБЦ рачуна разблажену крв у целини и мери волумен ћелија. Будући да је електрична импеданца диференцијално генерисана од стране крвних ћелија пролазећи кроз бленде пропорционална његовом обиму, запремина ћелија се израчунава са множењем импеданце диференцијално од стране датог фактора. Крвне ћелије, се не понашају исто у мерном систему. Нормална црвена зрнаца се могу веома деформисати у сензорској зони и добити издужено елипсasti облик, који производи електричну "сенку" веома сличну геометријској запремини ћелије. Бројање белих крвних зрнаца се добија као

број крвних ћелија, који остане након лизе суспензија у разблаженој целој крви са сапонином. У овом смислу, стари хематолошки анализатори нису ниста више него бројачи крвних ћелија. Крута сфера, са друге стране, поново производи уздужно елиптичну електричну "сенку" али у овом случају са димензијама скоро 1,5 пута већим од геометријске запремине. Однос електричне запремине/геометријске запремине је познат као "облик фактор". За нормална црвена крвна зрнца фактор облика је дакле 1,0. Овај коректовани фактор се прецизно разликује у зависности од величине отвора бленде и крвних зрнаца физичких особина, еритроцити захтевају највише пажљиво разматрање морфолошких фактора. Касније мерење средњег волумена еритроцита постаје могуће; наменски компактан пулс високог анализатора постао је доступан на самосталној основи. Иако је овај анализатор, комерцијално назван "Channelizer", коришћен за добијање расподела величине честица кривих, био суштински намењен за употребу истраживања, није био лако доступан клиничким лабораторијама. Поред тога, било је спорно да је термин "величина честица" неприкладан за употребу у медицини. Релевантност "Channelizera" постаје одмах јасна. Пажљивим избором величине отвора у односу на честице које су измерене, "Channelizer" кумулативно анализира сигнале генеризоване крвљу ћелија и оспособљен је да разликује црвена и бела крвна зрнца признавањем корита између различитих крвних дистрибуција ћелија. Да би се повећала способност дискриминације ових крвних група ћелија, потребно је изабрати отвор бленде, који одговара ћелији мете крви; већи отвори се препоручују за већа крвна зрнца и обрнуто. Као резултат, наменски тромбоцитни бројачи са мањим отворима постали су доступни. Тренутно, захваљујући побољшаној технологији обраде сигнала и способности скоро потпуне елиминације електричног шума и буке флуида, могуће је извршити дискриминацију међу сигнаlima из свих врста крвних ћелија користећи један детектор. Треба напоменути, међутим, да ће доћи до погрешних података осим ако лабораторија бира анализатор који може да бележи релативни ћелијски дистрибуцијски спектар, нпр. за мерење крви животиња. Разлог зашто су тренутно доступни хематолошки анализатори из "Sismex" корпорације је да је опремљен да спречи блокаду бленде прашином, и малим мехурићима спонтано произведених током рада. Такви мехурићи могу држати отворе за детекцију и смањити њено отварање, ствара се неправилан проток суспензованих ћелија, што доводи до појаве великог броја лажних сигнала. То доводи до погрешног бројања. Јасно је да је неопходно за правилно бројање изабрати анализатор опремљен детектором погодним за тип ћелије која се броји. Пре тридесет до четрдесет година, реагенси су припремани у лабораторији од сирових хемикалија. Сва стакла је било потребно очистити марљиво од стране лабораторијског особља. Мерење хемоглобина на основу методе цианметахемоглобина, укључивала је мукотрпне процедуре, као што су припрема велике количине бледо жутог раствора, дозирање епрувете на 10мл по туби, и прање епрувета које се користе. Безбедносни разлози заштите животне средине су допринели замени методе цианметахемоглобинског мерења са SLS (енг. Selective laser sintering) методом.

Касније, увођењем мерног апарата за хемоглобин, за хемоглобинске анализе како да би се омогућило аутоматско израчунавање индекса еритроцита омогућило је и аутоматско израчунавање тромбоцита. Перформанса инструмента је побољшана увођењем вакумских крвних семплера, регала, итд. После тога полуаутоматска технологија је потпуно замењена од стране аутоматизоване технологије. Једноставан бројач се развио у универзални потпуно аутоматизовани хематолошки анализатор, који су данас доступни. Потпуно аутоматизовани системи сада садрже напредни софтвер који сервира широк

спектар лабораторијских функција. Дистрибуција ових напредних система, међутим, и даље је географски неравномерна. Они се налазе у средњим и великим болницама у развијеном делу света и веома ретко у мање развијеним земљама. Реалност је да само велике болнице могу да дозволе и купе потпуно аутоматизован хематолошки анализатор, док се већина мањих болница неизбежно ослањала на бројање преко ручног разводњавања целе крви помоћу полуаутоматизованог анализатора.

Доба аутоматизоване диференцијације белих крвних зрнаца - Као што је већ речено, еритроцити и тромбоцити су анализирани истовремено. Са друге стране, леукоцити су дискримисани, јер су већи од еритроцита. Међутим, сигурно бела и црвена крвна зрнаца показују електричне сигнале готово једнаким интезитетом, јер лимфоцити и еритроцити су слични по величини у Гимза подлози. Стога, бројање еритроцита добијених у најранијим анализаторима укључује и леукоците. Тада је неопходно да се исправи бројање црвених крвних зрнаца, када постоји енормно висок број белих. Јасно је да ово није ситуација са модерним анализаторима. Бројање леукоцита добијено бројењем ћелија преосталих после еритроцита се ради лизирањем, додавањем лизин реагенса, те су за ове потребе недавно уведени сурфактанти. Водена лиза се не користи за ова мерења, пошто се затворене сенке еритроцита (енг., *ghost*) појављују као мало веће ћелије и могу изазвати забуну у леукоцитима. Сапонин, супстанца биљног порекла, се јавља у широком опсегу молекулских маса, јер је степен везивања његових шећерних ланаца промењив. Хемолитичка активност сапогенина није константна међу екстракцијом производа, као и код различитих биљних врста, а контрола квалитета лиза реагенса је на основу њега тешка. Овај аспект је довео до постепеног повећавања сурфактаната. Употреба лиза реагенса представља проблем у регулисању активности за оптимизацију које изазива. Претеране активности доводе до формирања ћелијских фракција које су сувише мале да се измере; недовољна активност доводи до истрајности сферичног облика. Литички реагенси утичу на липидни састав мембране еритроцита и хемоглобинска својства. Активне српасте ћелије су изузетно отпорне на деловање хемолитичких реагенаса. Код анемије српастих ћелија, због специјалне модификације, продужење времена лизом су неопходна. Након третмана сапонином на целој крви, диференцијално бројање леукоцита се може извршити.

Доба прецизног мерења – Пошто поседују велику прецизност и тачност, хематолошки анализатори, који користе електрични метод импеданце чине тренутно већину хематолошких анализатора на светском тржишту. Наиме, њихова непрецизност није већа од 2% за хемоглобин, 3% за бројање, а 5% за леукоците и тромбоците. Ово представља бољи аналитички рад него код клиничког биохемијског испитивања липида и ензима. Висока прецизност се не може обезбедити док се не испуне три основна услова: основни метод референце, референтни анализатор и референтни материјал. У зависности од различитих параметара хематологије, хемоглобин сам испуњава све ове услове; ово осигурава одличну поузданост мерења хемоглобина. Насупрот томе, подаци добијени бројањем еритроцита су више варијабилни у зависности од тога који је стандард изабран. Референтне вредности бројања тромбоцита су претходно добијане директном методом контрастне микроскопије али се данас добијају истовремено са референтним бројањем еритроцита, помоћу референтног анализатора. Број белих крвних зрнаца добија се као број честица разблажених у крви након лизе еритроцита коришћењем референтног анализатора.

За комерцијално доступне анализаторе, бројачи латекс честица и обим су калибрисани и успели да обезбеде сталну прецизност и тачност помоћу контроле

квалитета крвних зрнаца. Овде је однос између MCV и латекс честица детаљно описан. Сигнали ћелије произведени од стране електрично-отпорног детектора немају увек исту висину пулса, чак и када једнаке величине честица пролазе кроз отвор. Такође не постоји апсолутни коефицијент за конверзију висине импулса на осцилографу до запремине крвних ћелија. Поред тога, иако свеже људске ћелије крви могу бити идеалне за употребу као основни референтни материјал, њихова мерења нису константна. Насупрот томе, латекс честице показују веома јасне расподеле величине честица са минималним варијацијама у величини; репродуктивност њихове дистрибуције је стабилна. Дакле, сада је могуће да се стандардизује вредност јачине крвних ћелија за различите хематолошке анализаторе употребом честица латекса једне величине. У геодетски високој контроли квалитета, између анализатора разлика у пронађеним вредностима против узорака за контролу квалитета крви су често проблематичне, захваљујући нарочито великој разлици између MCV и хематокритских података. То је зато што је екстерна контрола квалитета узрок полуфиксног примерка људске крви, тако да мења њену морфологију и реакцију за понашање у течном окружењу. Резултати добијени са квалитетним контролним материјалом никада се потпуно не слажу са резултатима добијеним из свеже крви. Употреба свеже крви за контролу квалитета узрока је идеална, али није практична. Код аутоматизоване петоделне разлике леукоцита, процена течности се уобичајено базирала на основу микроскопске класификације Гимза подлога. У последњих неколико година, међутим, дошло је до растућег тренда па се проточна цитомерија користи као референтна метода. Иако су неутрофили и еозинофили лако дискриминисани од стране других типова ћелија према њиховим електричним и оптичким карактеристикама, референтни метод проточне цитомерије је неопходан за моноците, лимфоците и базofile.

Доба хибридних бројача и вишеструка функција хематолошких анализатора - У историји је 50 година прошло од хематолошких анализатора помоћу електричне импеданце, њихова примена је почела са експерименталном анализом и напредним клиничким лабораторијама и индустрије анализатора. Анализатор за дистрибуцију величине честице за индустрију постоји у пољу квалитетне контроле хране, дроге, козметике, уља, масти и осталих продукта. Новије медицинске употребе укључују процену функција тромбоцита мембране, хематолошки анализатори користе електричну импеданцу за идентификацију крвних матичних ћелија, деформацију еритроцита, мембранску транспортну способност, формирање експлозије лимфоцита, одређивање крвне групе и у друге сврхе. Међутим, ниједан произвођач није успео у анализи ретикулоцита методом електричне импеданце упркос разним покушајима да се то уради. Ово преставља ограничења овог типа анализатора електричне импеданце. Да би се превазишло ово ограничење, мерење крвних ћелија оптичком аналитичком методом је развијено. Тренутно, многи анализатори су комбинација типа анализатора електричне импеданце и оптичких метода.

Биохемијски анализатори - У аналитичкој фази рада постоји неколико фаза од припреме узорка, до вршења хемијске реакције, мерења, анализирања и чувања података, а карактеристика ове фазе рада је све већа аутоматизација. Висока аутоматизација и роботизација аналитичке има своје добре стране, јер повећава прецизност и штеди време, али се због тога морају вршити строге контроле квалитета рада апарата у лабораторији и то свих његових делова.

Припремање узорка за анализу захтева доста времена и обухвата период од узимања крви до њеног згрушавања, центрофугирања и издвајања плазме или серума.

Тако издвојени плазма или серум се из примарних епрувета у којима је била крв стављају у секундарне епрувете, које се даље користе у лабораторијском раду. За припрему узорка у лабораторију израђени су посебни роботи с механичком руком, који служе за транспорт и дељење узорака, као и за постављање у центрифугу, а цео процес се контролише софтверски. Потом се епрувете са одвојеним серумима или другим узорцима распоређују на радна места где се врше појединачне анализе. Поступање с узорком у анализатору зависи од тога да ли су у питању проточни или дискретни анализатори. Допремање узорка се врши помоћу различитих покретних трака или роботизованог носача.

Центрифуга је уређај који користи центрифугалну силу да би одвојила честице из раствора или раздвојила помешане течности различите специфичне тежине. У биомедицинским наукама, честице су најчешће ћелије, субцелуларне органеле или пак велике молекуле, у хемији то могу бити емулзије, минералне честице, итд. Постоје два типа центрифугирања: један је тзв. припремни, који служи за изолацију специфичних честица и други, аналитички, који укључује и мерње физичких особина исталожених честица. Када се ротор заврти у центрифуги, центрифугална сила делује на сваку честицу у узорку. Честице ће се тако исталожити брзином која је пропорционална јачини центрифугалне силе која делује на њу. Вискозност раствора и физичке особине честица такође утичу на брзину таложења честица. При фиксној центрифугалној сили и вискозности раствора, брзина таложења честице је пропорционална величини честице (молекулска маса) и разлици између густине честице и густине раствора.

Целокупна теорија центрифугирања, почива на Штоксовом закону. Из њега се изводи следеће: 1. брзина таложења честице је пропорционална величини честице; 2. брзина таложења је пропорционална разлици између густине честице и густини течне компоненте; 3. брзина таложења је нула када је густина честице једнака густини течне компоненте; 4. брзина таложења се смањује са повећањем вискозитета честице; 5. брзина таложења се повећава са повећањем гравитационе силе. Такође, из тог закона даље произилази да је маса честица пропорционална коефицијенту таложења и обрнуто пропорционалан коефицијенту дифузије. То на пример значи да ће честица мале молекулске масе, коју желимо да исталожимо имати мали коефицијент таложења, односно, показиваће тенденцију да се брзо распрши у раствору ниског вискозитета. Још један од појмова, који су битни при центрифугирању је и релативна центрифугална сила (RCF), која се може израчунати на следећи начин: $RCF = RPM^2 \times 0,0112 \text{ p} / 10.000$ (где је RPM- број обрта у минути; p- пречник).

Серум се углавном узима **микропипетама** и врши се даља манипулација њиме у циљу формирања лабораторијског аликвота, тј.узорка који ће даље отићи на мерење. За потребе одмеравања тачне запремине реагенса у лабораторији користе се различите посуде и пипетте. За прецизно мерење запремине у лабораторији употребљавају се одмерне тиквице пипете и бирете а за мерење запремине где се не захтева великатачност и прецизност користе се мензуре и градуиране пипете. Овај прибор се најчешће прави од стабилног и хемијски отпорног стакла, а аналитичко посуђе овог типа се калибрише на 20°C.

Разликујемо неколико врста пипета. Мохрова пипета или трбуштаста пипета је уска стаклена цев која има проширење у средини, а на крају се налази капиларно сужење. Она се калибрише на време чекања током изливања на 20°C. Поред наведеног, постоји и градуирана пипета, која је уска стаклена цев с урезаним ознакама запремине и при дну сужена у ширу капилару.

За прецизно одмеравање течности из боца користе се и дозатори-диспензери, који се стављају на боцу и имају прецизан и несаломив клип у себи који повлачи задату запремину течности. На тај начин се избегава пресицање у мензуре или друге мерне судове, чиме се смањује грешка и расипање скувих реагенса у лабораторији.

Поред класичних пипета, постоје и аутоматске пипете одређене или варијабилне запремине. Микропипета је уређај за аутоматско усисавање и испуштање малих волумена течности од 5 до 1000 микролитара. Постоје и аутоматске пипете за веће запремине. Аутоматска пипета има на горњем крају клип, којим се може подешавати запремина течности (обртањем клипа), а његовим притискањем и пуштањем се извлачи потребна запремина течности. Клип се притисне док се не осети први отпор и отпусти, чиме је узета жељена запремина течности; течност се преноси на жељено место притискањем тастера док се не осети други отпор. Пипета увек мора стајати право и течност се не узима под углом, јер узимање течности под углом доводи до грешке у запремини од 1 до преко 5%. На доњем крају микропипете налази се пластични наставак који се по завршеном пипетирању баца.

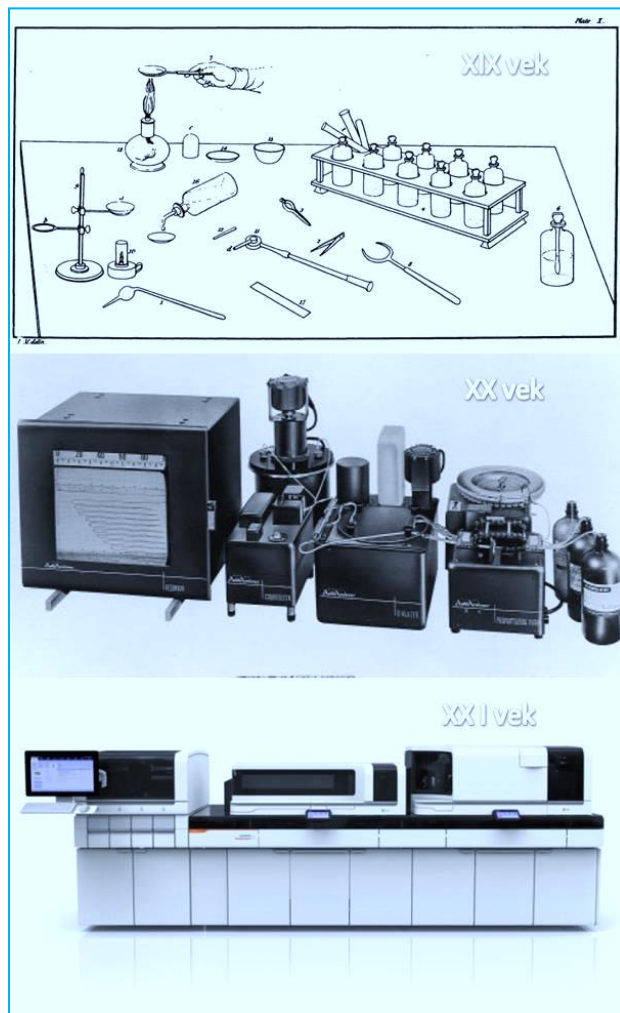
Ово је веома битно јер су најчешће биохемијске реакције одвијају у течnoj средини, па свако одступање запремина доводи до лажног резултата.

Поједини анализатори користе **течне реагенси**, који се чувају у стакленим или пластичним бочицама. Реагенси могу бити једнокомпонентни, двокомпонентни или, ређе, трикомпонентни. Неки анализатори користе плочице са импрегнираним реагенсима. У великим анализаторима постоји посебан расхлађени део унутар анализатора за чување реагенса на одређеним температурама (4-10°C). У анализаторима у којима се узорци не одређују континуирано, реагенси се чувају у фрижидеру и постављају се по потреби. Треба обратити пажњу на рок трајања реагенса. Анализатори који раде више анализа и користе више од једног реагенса захтевају испирање игала, којима се узимају узорци и реагенси да би се спречила контаминација, што се у модерним апаратима врши аутоматски.

Хемијска реакција је следећа фаза, које се врши у тренутку мешања одређене запремине узорка са унапред одређеном запремином одређеног реагенса. Код већине анализатора, запремина узорка износи од 0,5 до 10 μL , док запремина реагенса обично варира од десетак до неколико стотина μL . Ова фаза се врши у одговарајућим посудицама, које се називају кивете. Конструкција кивета зависи од врсте апарата, а битно је да су направљени од стандардног материјала и стандардне дебљине, да би се правилно извело спектрофотометријско мерење.

Спектроскопске методе су најчешће методе на којима почива рад савремених биохемијских анализатора. Спектроскопске методе се заснивају на мерењу емитоване или апсорбоване енергије од стране материје која се испитује. Апсорпцијске методе се користе када се изврши побуђивање атома, молекула или јона довођењем одређене количине енергије и они остану стабилни у том побуђеном стању, те се мери количина апсорбоване енергије. Ако је ово стање нестабилно долази до "враћања" у основно енергетско стање, при чему долази до емитовања вишка енергије када се користе емисионе методе, које се заснивају на мерењу емитоване енергије. Атоми појединих хемијских елемената емитују светлост када им се доведе довољна количина енергије, што се објашњава побуђивањем периферних електрона у атому. Емитована светлост је таласне дужине која је карактеристична за сваки елемент посебно, па се квалитативно може

одредити тај елемент. Поред наведеног могуће је и квантитативно одређивање јер јачина светлости одговара броју побуђених атома.



Горе-Опрема за дијагностику уролита према Марцет-у из 1819 године; У средини-Први биохемијски аутоанализатор из 1957.године, Доле-Савремена интегрисана лабораторија за клиничку биохемију и имуноесеј технике

Спектрофотометрија је апсорпциона метода која се заснива на праћењу зависности апсорбанце од таласне дужине зрачења које је прошло кроз анализирану супстанцу. Апсорпција се може пратити у видљивом, UV, IC, микроталасној или радиофреквентној области. Основни елементи инструмената којима се мери апсорпција су: 1. извор који емитује зраке жељене таласне дужине, 2. сепаратор који омогућава да се зрачење одређене таласне дужине одвоје од осталог дела зрачења и 3. детектор енергије, који мери део енергије која пролази кроз узорак. Општа теорија апсорпције се заснива на Ламберт-Бееровом закону. Ламберт-Бееров закон показује да апсорбанца неког раствора директно пропорционална концентрацији врсте која апсорбује као и дужини пута. Тако на пример, ако је константна дужина пута, UV/VIS спектроскопија се може искористити за одређивање концентрације апсорбујуће супстанце у раствору. Потребно је напоменути да се апсорбанца мења веома брзо са променом концентрације. Ово може бити узето из

таблица за моларне коефицијенте екстинције или се пак може одредити преко калибрационе криве.

Колориметрија или спектрометрија у видљивом делу спектра се заснива на принципу да многе супстанце имају особину да дају обојене растворе. Што је растворена већа количина супстанце то је расвор јаче обојен. Концентрација раствора узорка се добија упоређивањем са бојом раствора познате концентрације. Различита боја неке супстанце настаје као последица апсорпције светлости одређене таласне дужине што доводи до обојења супстанце. При томе људско око уочава боју која је комплементарна боји коју та супстанца апсорбује. Код беле боје треба истаћи да се она јавља када супстанца рефлектује сву количину светлости која падне на њу, а *црна* када се комплетна количина светлости апсорбује. Дакле, супстанца апсорбује одређени део спектра, при чему је она сама обојена комплементарном бојом.

Делови спектрофотометра су: 1. Извор светлости (Light source) - Извор светлости генерише светлосни талас који се затим шаље кроз узорак. Спектрофотометри користе различите изворе светлости, у зависности од опсега таласних дужина које инструмент треба да мери. Деутеријумска лампа (D₂) користи се у UV спектрофотометрији (180–400 nm), Тунгстенска лампа (W) користи се у UV-VIS спектрофотометрији (350–2500 nm), Халогена лампа користи се у IR спектрофотометрији. Извор светлости мора имати стабилан излаз и широк опсег таласних дужина, како би обезбедио потребну светлост за анализу у жељеном опсегу. 2. Монохроматор (Monochromator) - Монохроматор је уређај који селекује одређену таласну дужину светлости која ће проћи кроз узорак. Функција монохроматора је да "раздваја" светлост у њеним различитим таласним дужинама и омогућава пролаз светлости једне таласне дужине. Призма се користи у старијим моделима, прелама светлост на основу њеног таласног броја. Дифракциони граничник често се користи у новијим моделима за дифракцију светлости. Дифракциони граничник користи физичке карактеристике површине да се светлост раздвоји на различите таласне дужине. 3. Узорковач (Sample holder) има улогу да држи узорак који се анализира. Узорак може бити у облику течности, раствора, прашка или гасова. Узорковачи се обично праве од материјала који не апсорбују светлост у опсегу таласних дужина који се користи (нпр. кварцни или стаклени судови за UV и VIS светлост). 4. Телескоп (Optical system) је оптички систем води светлост кроз инструмент. Састоји се од низа огледала и сочива које управљају светлосним путем. Такође, оптички систем усмерава светлост кроз узорак и даље на детектор. 5. Детектор (Detector) је уређај који мери количину светлости која излази из узорка. Детектор претвара светлост у електрични сигнал који се касније обрађује како би се одредила концентрација анализата у узорку. Фотодиода (Photodiode) се користи у већини UV-VIS спектрофотометара. То је полупроводнички уређај који ствара електрични сигнал када детектује светлост. Фотомултипликатор (Photomultiplier tube-PMT) се користи у спектрофотометрима који захтевају високу осетљивост. Ово је детектор високог појачања који може детектовати чак и веома слабе сигнале светлости. Инфрацрвени детектор (IR Detector) се користи у ИР спектрофотометрији. 6. Читач сигнала / Електронски систем (Signal processor / Electronic system) има улогу након што детектор претвори светлост у електрични сигнал, овај сигнал се шаље електронском систему који обрађује податке и приказује их на екрану инструмента као апстрактну величину, попут апсорбанције, трансмиттанције или концентрације анализата. Електронски систем контролише и друге функције инструмента, као што су контрола светлосне таласне дужине и калибрација. 7. Екран / Плоча са резултатима (Display/Output) је значајан део јер

се на њему могу приказати резултати мерења. Резултати могу бити приказани као графикон (апсорбанција / таласна дужина) или као нумерички подаци. 8. Компјутерски систем и софтвер (Computer and Software) значајни су у модерним спектрофотометрима и повезани су са рачунарима који омогућавају аутоматизацију мерења и обрада података. Специјализовани софтвер омогућава: креирање калибрационих кривих, управљање подацима, аутоматизацију мерења, анализу резултата (нпр. квантификација концентрације анализата). 9. Затварачи (Optical filters) постоје у неким спектрофотометрима и они селекутују специфичне таласне дужине светлости пре него што стигну до узорка. Филтери могу бити физички уређаји (стаклени или пластични) који блокирају одређене таласне дужине светлости.

Принципи рада спектрофотометра: Зрак светлости (дневна светлост или пореклом од спектралне лампе) пролази кроз две посуднице. Једна је напуњена раствором познате концентрације тзв. стандардни раствор а друга посудница раствором непознате концентрације, који се испитује. После пролаза кроз растворе светлост пролази кроз систем за мерење и детекцију. Најпре су створене Неслерове епрувете, где су се оком детектовале промене боје у епрувети и вршило поређење са епруветом у којој је стандард. Пример за то је метод за детекцију хемоглобина. Потом су развијени фотолелектрични колориметри (фотометри), који као извор светлости користе обичну сијалицу (монохроматски извор) и фотоелектричну ћелију као сензор. Светлост извора се претвара у монохроматску помоћу филтра или призме и потом се апсорпција детектује на фотоелектричном детектору. Инструмент је подешен тако да показује апсорпцију (A) од 100% за "слепоу пробу" (дестиловану воду). Фотометар за читавање користи светлосне филтере, који могу мерити само светлосне дужине између ултравиолетних и инфрацрвених светлосних и не могу читати апсорбанцију ултраљубичастих и инфрацрвених дужина. Спектрофотометар има софистициранији систем раздвајања светлости у појединачне таласне дужине и мерење интензитета на свакој појединачној таласној дужини. Типично, спектрофотометар има монохроматор (за раздвајање појединачних таласних дужина светлости) и инструмент за скенирање. Спектрофотометри су изузетно распрострањени и погодни у рутинској биохемијској дијагностици.

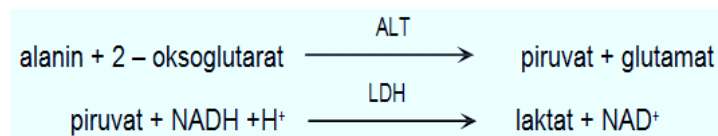
У зависности од спектра разликујемо још и ултраљубучасту спектрофотометрију, инфрацрвену спектрофотометрију. Постоје методе у којима се користи пламен за побуђивање.

Следећа фаза је мерење реакцијских продуката помоћу спектрофотометрије, када се мери апсорбанца реакцијских продуката. Мерење апсорбанце захтева: извор светлости, издвајање дела спектралне линије и детектор интензитета светлосне енергије. Извор светлосне енергије је нека од лампи (Валфрамова лампа, кварцна халогена лампа, живина лампа, ксенонска лампа или ласер). Таласне дужине су у распону од 300 до 800 nm. Већина анализатора као детектор користе фотодиоде. Имунохемијски анализатори користе фотомултипликаторе чији је задатак пружање адекватне осетљивости и брзи одговор при флуоресцентном и хемилуминисцентном мерењу. Остали начини мерења су: рефлексна фотометрија, флуорометрија, поларизацијска фотометрија, турбидиметрија, нефелометрија, кемилуминисценција и електрохемијске методе. Аналитичке методе мерења биће описане у наредним поглављима. После мерења врши се регистровање и рачунање резултата, што се врши помоћу различитих софтверских решења и програма, који контролишу и прате рад анализатора.

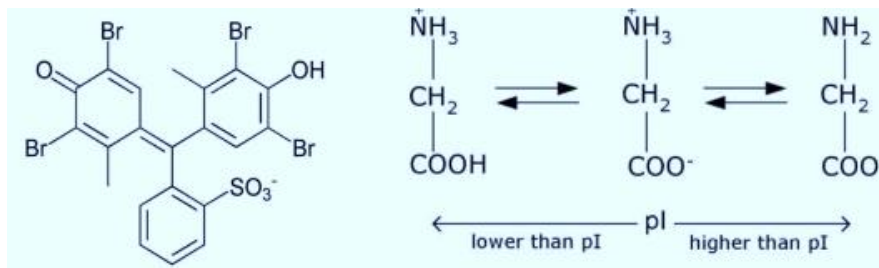
У зависности од конструкције и начина рада са узорцима анализатори се могу класификовати на више класа. Сви анализатори имају следеће саставне делове: сталак за узорке с иглом за аспирацију узорка, јединицу за допремање и пипетирање реагенса, термостат, мерни инструмент, рачунар, писач и излазну јединицу за пренос података. Анализатори се могу класификовати на следећи начин: а) једноканални анализатори- раде једну анализу на већем броју узорка; б) вишеканални анализатори- раде више разних анализа у исто време из истог узорка и дају више резултата за сваки узорак; ц) групни анализатори- раде у исто време у једној серији анализу већег броја узорка; д) секвенцијални анализатори- раде једну анализу за другом и тим редом бележе резултате; е) паралелни анализатори- раде упоредно и истовремено више анализа. ф) селективни анализатори- раде само оне анализе које су потребне за дати узорак. Селективни анализатори су вишеканални; г) неселективни анализатори- раде у свим узорцима све анализе из свог програма, без обзира да ли су потребни или не; х) анализатори са слободним приступом- раде на принципу случајног избора. Већина данашњих анализатора су на овом принципу; и) проточни анализатори- представљају најстарији аналитички систем где узорци и реагенси теку кроз систем пластичних цеви и у њима се мешају, па због тог непрекинутог протока називају се још и континуираним проточним системом; ј) центрифугални или ротацијски анализатори- су једноканални анализатори који раде на принципу центрифугалне силе; к) филм-анализатори- су уређаји који раде са сувим реагенсима.

У наставку следи опис метода за одређивање важнијих биохемијских параметара у крви животиња.

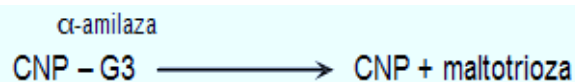
Аланин аминотрансфераза (АЛТ или ГПТ) катализује пренос амино групе са аланина на 2-оксоглутарат, формирајући пируват и глутамат. Каталитичка концентрација се одређује на основу стопе смањења НАДХ, мерено на 340 nm, помоћу лактат дехидрогеназе (ЛДХ) кроз реакцију купловања.



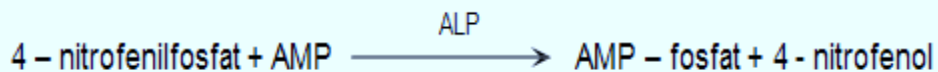
Албумин у узорку реагује са бромокрезол зеленим у киселој средини, формирајући обо-јени комплекс који се може мерити спектрофотометријски.



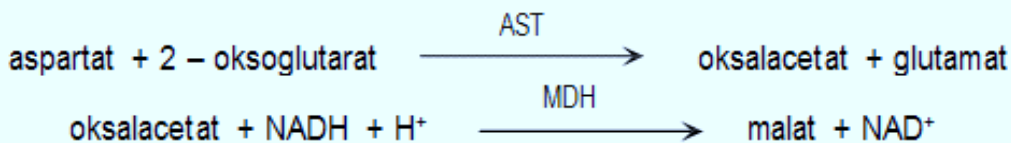
α -Амилаза катализује хидролизу 2-хлоро-4-нитрофенил-малто-триозида (ЦНП-Г3) до 2-хлоро-4-нитрофенола (ЦНП). Каталитичка концентрација се одређује на основу степена повећања 2-хлоро-4-нитрофенола, који се мери на 405 nm.



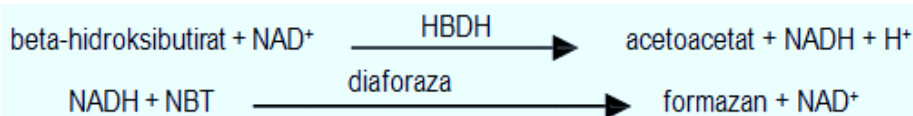
Алкална фосфатаза (АЛП) каталише пренос фосфатне групе са 4-нитрофенилфосфата на 2-амино-2-метил-1-пропанол, (АМП) у алкалном медијуму, ослобађајући при том 4- нитрофенол. Каталитичка активност ензима одређује се на основу брзине стварања 4-нитрофенола, мерено на 405 nm.



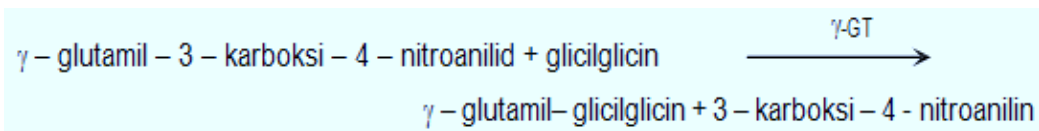
Аспартат аминотрансфераза (АСТ или ГОТ) катализује пренос аминокислоте са аспартата на 2-оксоглутарат, формирајући оксалацетат и глутамат. Каталитичка концентрација се одређује на основу стопе повећања НАДХ, мерене на 340 nm, помоћу малат дехидрогеназе (МДХ), путем реакције купловања.



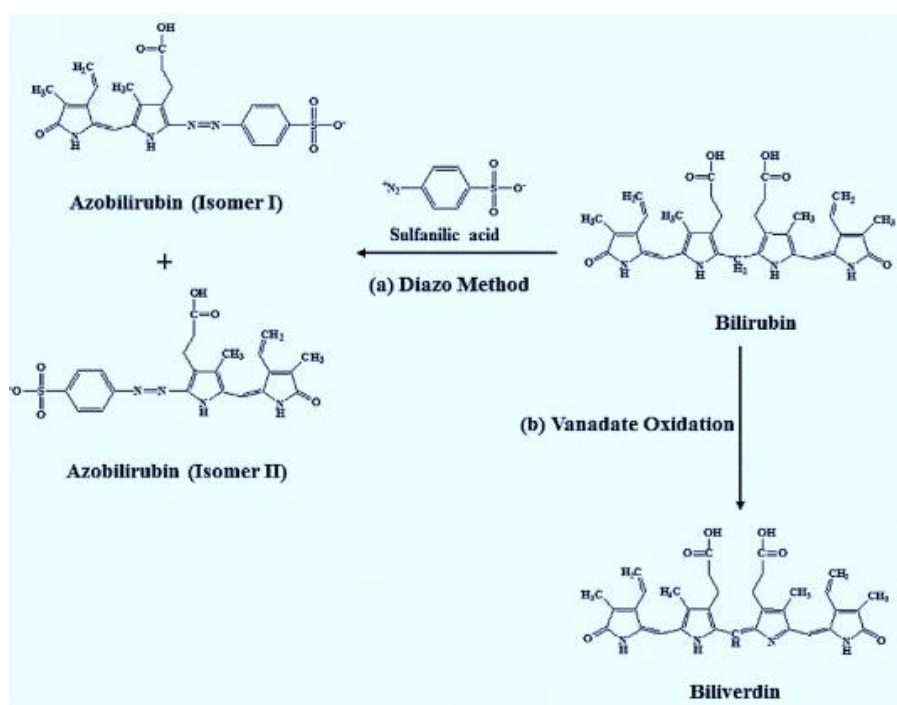
Бета-хидроксипропионат у узорку, у присуству НАД⁺, оксидује до ацетоацетата и НАДХ под дејством хидроксипропионат дехидрогеназе (ХБДХ). Добијени НАДХ се куплује индикаторском реакцијом у којој ензим диафораза катализује редукцију тетразолијумове соли (НБТ) у формазан који се може одредити спектрофотометријски.



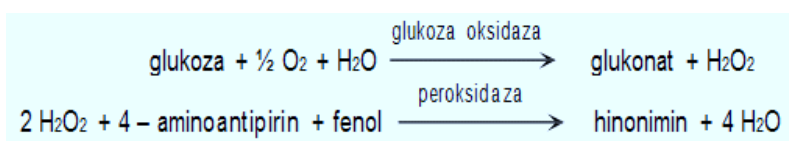
Гама-глутамилтрансфераза (γ -ГТ, ГГТ) катализује пренос γ -глутамил групе са γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида на глицилглицин, уз ослобађање 3-карбокси-4-нитроанилина. Каталитичка концентрација се одређује на основу степена настанка 3-карбокси-4-нитроанилина.



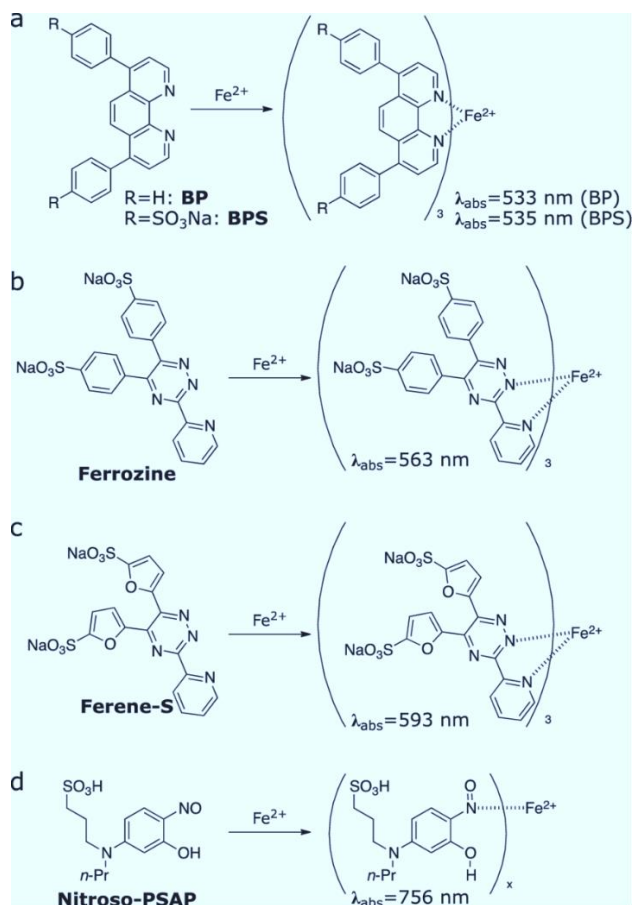
Директан билирубин из узорка реагује са диазосулфанилном киселином, формирајући обојени комплекс, који се може мерити спектрофотометријски. И директни и инди-ректни билирубин куплују се са диазо групом у присуству цетримиди. Термини “директан” и ”укупни” односе се на реактивне карактеристике билирубина у серуму у присуству или одсуству растворних (каталишућих) реагенаса. “Директан” и ”индиректан” билирубин су само апроксимативно еквивалентни коњугованим и не-коњугованим фракцијама.



Глукоза у узорку даје, посредством реакција купловања приказаних доле, обојени ком-плекс који се може измерити спектрофотометријски.

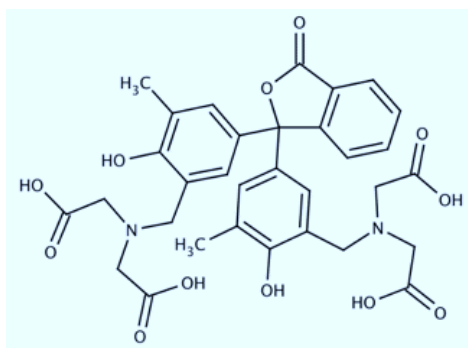


Гвожђе - Јони тровалентног гвожђа везани за трансферин из узорка се ослобађају посредством гванидина и редукују до двовалентног гвожђа посредством аскорбинске киселине. Феро јони реагују са ферином дајући обојени комплекс који се може одредити спектрофотометријски.

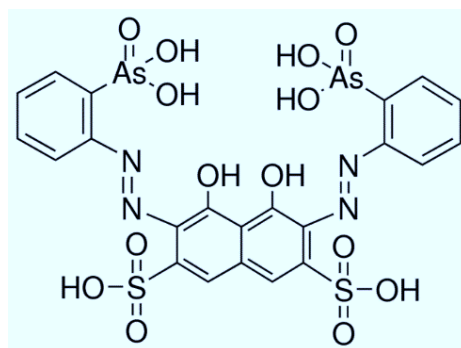


(DOI:10.3164/jcfn.16-70)

Калцијум у узорку реагује са о-крезолфталейн комплексом (о-ЦПЦ) дајући обојени комплекс који се може мерити спектрофотометријски. Други метод одређивања подразумева

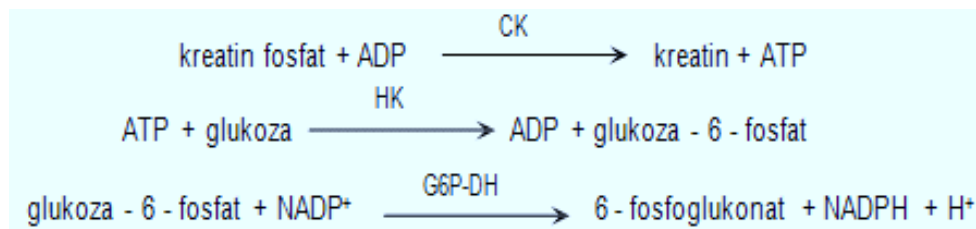


о-ЦПЦ

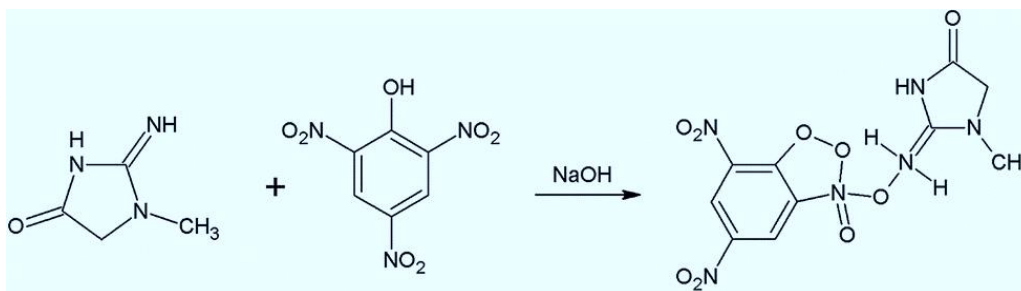


Арсеназо III

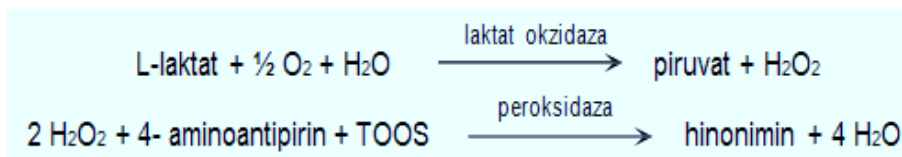
Креатин киназа (ЦК) катализује фосфорилацију АДП, у присуству креатин фосфата, при чему настаје АТП и креатин. Каталитичка концентрација се одређује путем стопе формирања НАДПХ, измерене на 340 нм, помоћу хексокиназе (ХК) и глукоза-6-фосфат дехидрогеназе (Г6П-ДХ) реакцијом купловања.



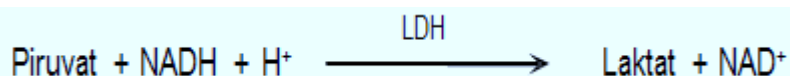
Креатинин из узорка реагује са пикринском киселином у алкалној средини при чему настаје обојени комплекс. Назива се још и Jaffé метод. Брзина формирања комплекса одређује се у кратком временском периоду да би се избегле интерференце. Узорци серума и плазме садрже протеине који реагују на неспецифичан начин. Међутим, резултати се могу кориговати одузимањем фиксне вредности. Употреба ове корекције позната је као Јаффе метод комензације. Реакција: креатинин+пикринска киселина=обојени хромоген.



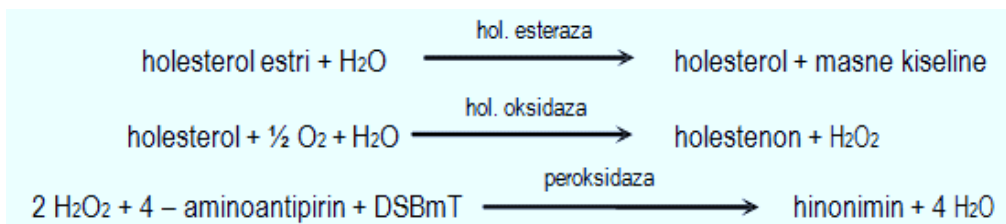
Л-Лактат присутан у узорку оксидише под дејством лактат оксидазе до пирувата и водоник пероксида. У присуству пероксидазе, како је описано доле, водоник пероксид заједно са 4-аминоантипирином и ТООС даје обојени комплекс који се може одредити спектрофотометријски.



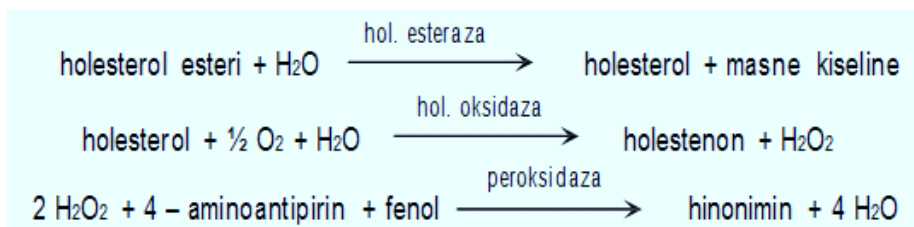
Лактат дехидрогеназа (ЛД или ЛДХ) катализује реакцију редукције пирувата од стране НАДХ, при чему настаје лактат и НАД⁺. Каталитичка концентрација се одређује на основу степена смањења НАДХ који се мери на 340 nm.



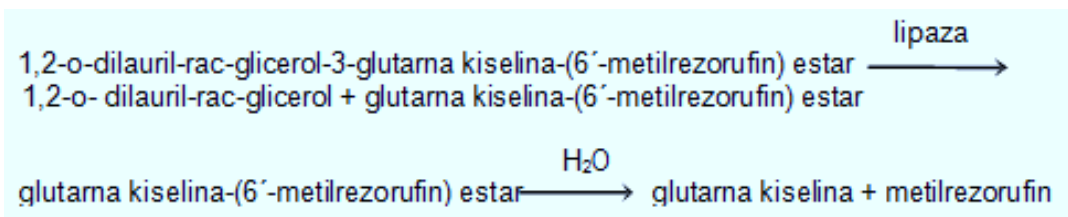
Одређивање ЛДЛ холестерола (директног) - Специфични детергент солубилизује холестерол из липопroteина велике густине (ХДЛ), липопroteина веома ниске густине (ВЛДЛ) и хиломикрона. Холестерол естри се цепају под дејством холестерол естеразе и холестерол оксидазе у реакцији без развоја боје. Секундарни детергент, присутан у реагенсу Б, солубилизује холестерол из липо-протеина ниске густине (ЛДЛ) у узорку. ЛДЛ холестерол се затим спектро-фотометријски мери посредством куплованих реакција описаних доле.



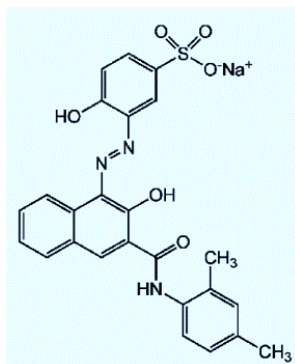
Липопroteини мале густине (ЛДЛ) из узорка се преципитирају поливинил сулфатом. Њихова концентрација се израчунава из разлике између укупног холестерола у серуму и холестерола у супернатанту након центрифугирања. Холестерол се спектро-фотометријски одређује посредством куплованих реакција описаних доле.



Липаза катализује хидролизу хромогеног субстрата 1,2-о-дилаурил-рац-глицерол-3-глутарна киселина-(6'-метилрезорфин)-естра у 1,2-о-дилаурил-рац-глицерол и нестабилни међупроизвод, естар (6'-метилрезорфин)-глутарне киселине, који се спонтано разлаже у алкалном раствору, те формира глутарну киселину и метилрезорфин. Каталитичка концентрација се одређује из брзине стварања црвене боје измерене на 580 нм.

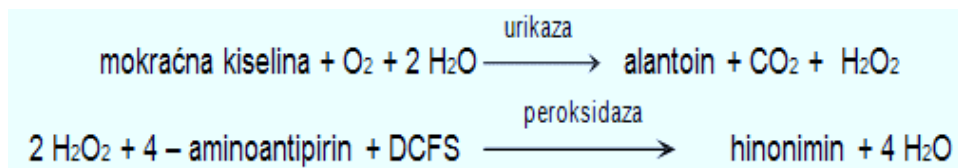


Магнезијум из узорка реагује са ксилидил плавим у алкалној средини при чему настаје обојени комплекс који може да се мери спектрофотометријски. ЕГТА се додаје реагенсу да би се спречио утицај калцијума.

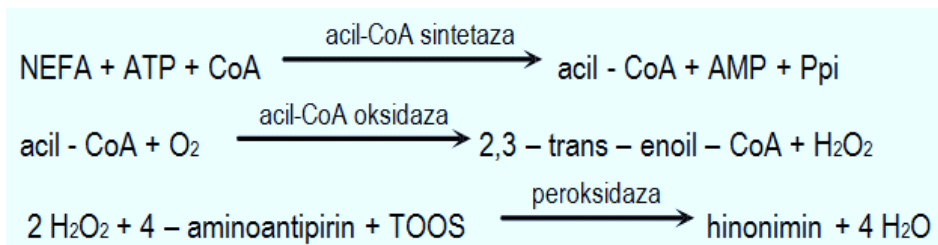


Ксилиди плаво

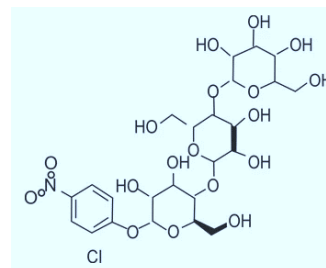
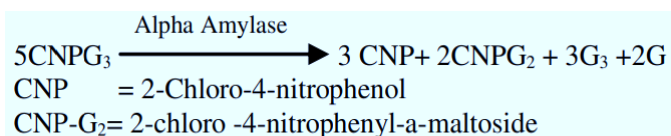
Мокраћна киселина из узорака, посредством реакција купловања приказаних доле, даје обојени комплекс који се може измерити спектрофотометријски.



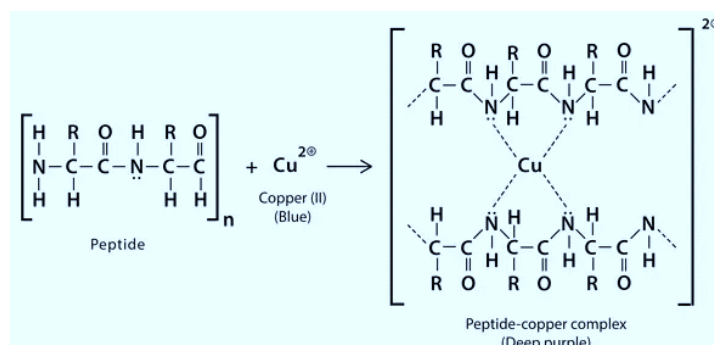
У пракси се користи реагенс за квантитативно одређивање концентрације неестерификованих масних киселина (НЕФА) у серуму или плазми за праћење метаболизма липида код опште популације. Реагенс се може користити мануелно. Само за ин витро професионалну употребу у клиничким лабораторијама. НЕФА у узорку се куплује доле приказаним реакцијама при чему настаје бојени комплекс који се одређује спектрофотометријски.



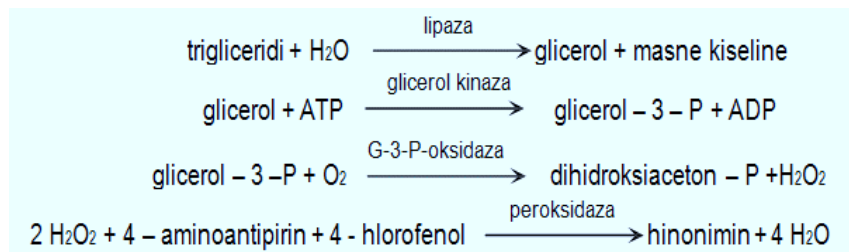
Панкреасна α -амилаза каталише хидролизу 2хлоро-4-нитрофенол-малтохептаозид-етилидена (структура десно) до мањих олигосахарида који се хидролизују под дејством α -глюкозидазе уз ослобађање 4-нитрофенола. Каталитичка концентрација се одређује на основу степена стварања 4-нитрофенола, измереног на 405 нм. Специфична антитела инхибирају саливарне изоензиме и омогућавају мерење панкреасне α -амилазе.



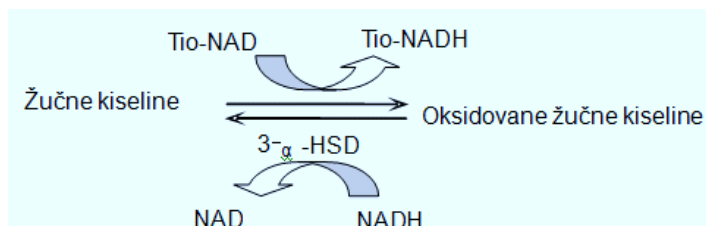
Протеини (укупни) у узорку реагују са бакар (II) јоном у алкалној средини дајући обојени комплекс који се може мерити спектрофотометријски. Ова реакција се назива Биуретска реакција.



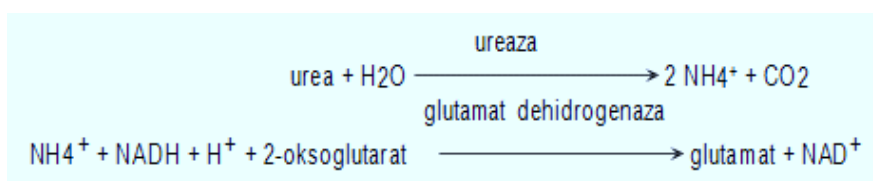
Триглицериди из узорка, посредством реакција купловања приказаних доле, дају обојени комплекс који се може измерити спектрофотометријски.



Мерење концентрације укупних жучних киселина у серуму или плазми заснива се на реакцијама које следе. У присуству тио-НАД, ензим 3- α -хидроксистероид дехидрогеназа (3- α -ХСД) конвертује жучне киселине у 3-кето стероиде и тио-НАДХ. Реакција је реверзибилна и 3- α -ХСД може да конвертује 3-кето стероиде и тио-НАДХ у жучне киселине и тио-НАД. У присуству вишка НАДХ, започиње ензимски циклус. Стопа формирања тио-НАДХ се одређује мерењем специфичне промене апсорбанце на 405 nm.



Уреа у узорку троши, преко реакција купловања описаних испод, НАДХ који се може мерити спектрофотометријски.

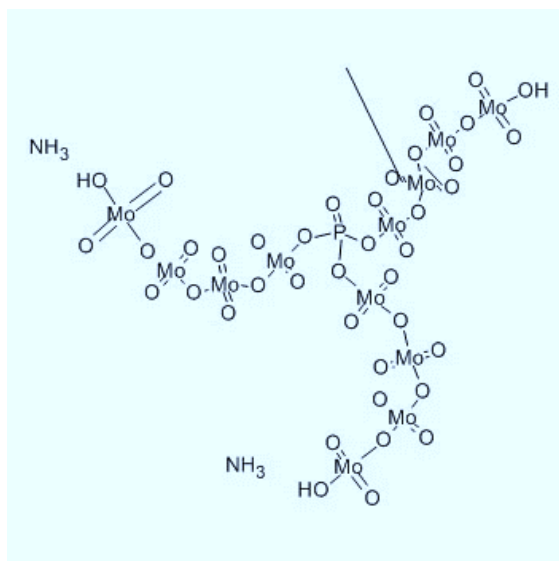


Принцип одређивања укупног капацитета за везивање гвожђа (ТИБЦ) - Fe^{3+} јони се додају узорку у вишку да би се заситио трансферин. Невезани Fe^{3+} јони се преципитирају са магнезијум хидроген карбонатом, док се гвожђе везано за протеине у супернатанту затим мери спектрофотометријски.

Принцип одређивања трансферина - Трансферин у узорку се преципитира у присуству антитела на хумани трансферин. Скретање светлости настало присуством комплекса антиген-антитело је пропорционално концентрацији трансферина и може се одредити турбидиметријски.

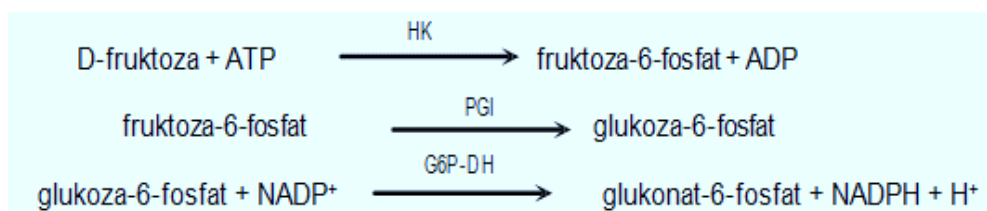
Принцип одређивања слободног капацитета за везивање гвожђа (УИБЦ) - Реагенс за мерење концентрације слободног капацитета везивања гвожђа (УИБЦ) у хуманом серуму или плазми за процену дисбаланса. Познате концентрације Fe^{2+} јона се додају узорку ради сатурације трансферина. Некомплексирани Fe^{2+} јони реагују са ферозином формирајући обојени комплекс који се може измерити спектрофотометријски. Интензитет обојења је обрнуто пропорционалан слободном капацитету везања гвожђа (УИБЦ) у узорку. Сума гвожђа у серуму и УИБЦ представља укупни капацитет везивања гвожђа (ТИБЦ).

Неоргански фосфор у узорку реагује са молибдатом у киселој средини формирајући фосфомолибдат комплекс који се мери спектрофотометријски.



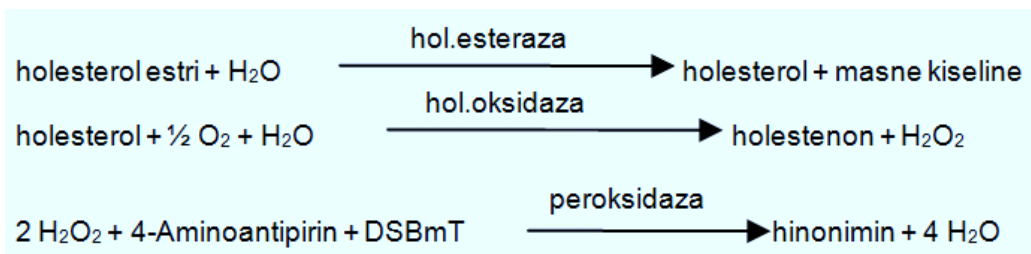
Амонијум фосфомолибдат

Фруктоза у узорку даје, посредством реакција купловања приказаних доле, НАДПХ који се може измерити спектрофотометријски.

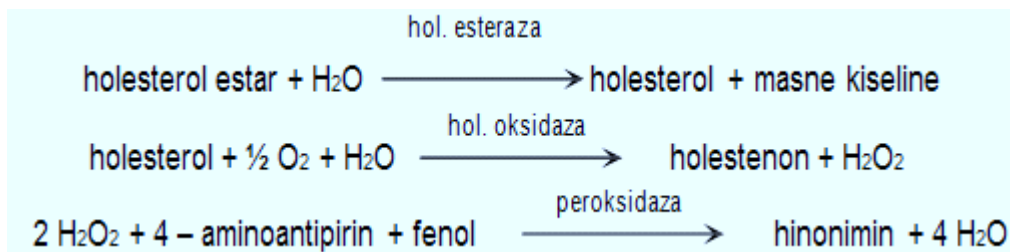


Принцип одређивања фруктозамина - Гликолизирани протеини серума редукују нитроблуе тетразолиум (НБТ) соли у базној средини. Однос насталог формазана на датој температури је пропорционалан концентрацији гликолизираних протеина у серуму.

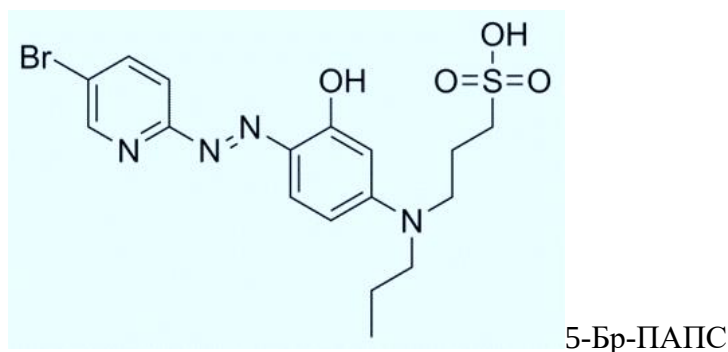
Холестерол из липопотеина ниске густине (ЛДЛ), веома ниске густине (ВЛДЛ) и хиломикрона, се разлаже под дејством холестерол оксидазе у убрзаној ензимској не-бојеној реакцији. Детерцент који се налази у Реагенсу Б, раствара холестерол из липопотеина високе густине (ХДЛ) из узорка. ХДЛ холестерол се потом спектофотометријски мери помоћу средњих вредности куплованих реакција описаних доле:



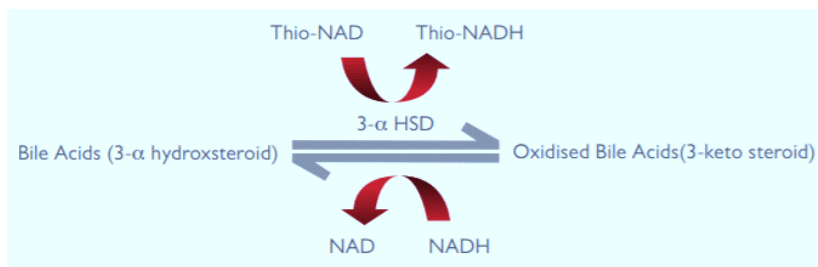
Одређивање холестерола - Слободан и естерификован холестерол из узорака, посредством реакција купловања приказаних доле, дају обојени комплекс који се може измерити спектофотометријски.



Цинк у узорку реагује са 5-Бр-ПАПС у алкалној средини дајући обојени комплекс који се може одредити спектофотометријски.



Методе за одређивање жучних киселина које се заснивају на принципу циклирања ензима нуде супериорне аналитичке перформансе, јер комбинују две реакције. У првој реакцији, жучне киселине се оксидирају помоћу 3- α -хидроксистероид дехидрогеназе, уз следећу редукцију Тхио-НАД у Тхио-НАДХ. У другој реакцији, оксидиране жучне киселине се редукују истим ензимом, уз следећу оксидацију НАДХ у НАД. Брзина формирања Тхио-НАДХ се одређује мерењем специфичне промене апсорбанције на 405 нм. Циклирање ензима значи да се из сваке молекула жучне киселине генерише више Тхио-НАД молекула, што доводи до знатно веће промене апсорбанције и амплификације сигнала, повећавајући осетљивост анализе.



(метод Randox)

Кинетика реакција и методе мерења - Сходно кинетици биохемијских реакција и моменту када се врши мерење у аналитичким тестовима односно биохемијским анализама користе се три врсте метода како би се одредила концентрација анализата у узорку и то су: метод крајње тачке (end point), метод две тачке (two point) и метод брзине (rate method). Свака метода има специфичне карактеристике у начину на који се мери одговор система током анализе.

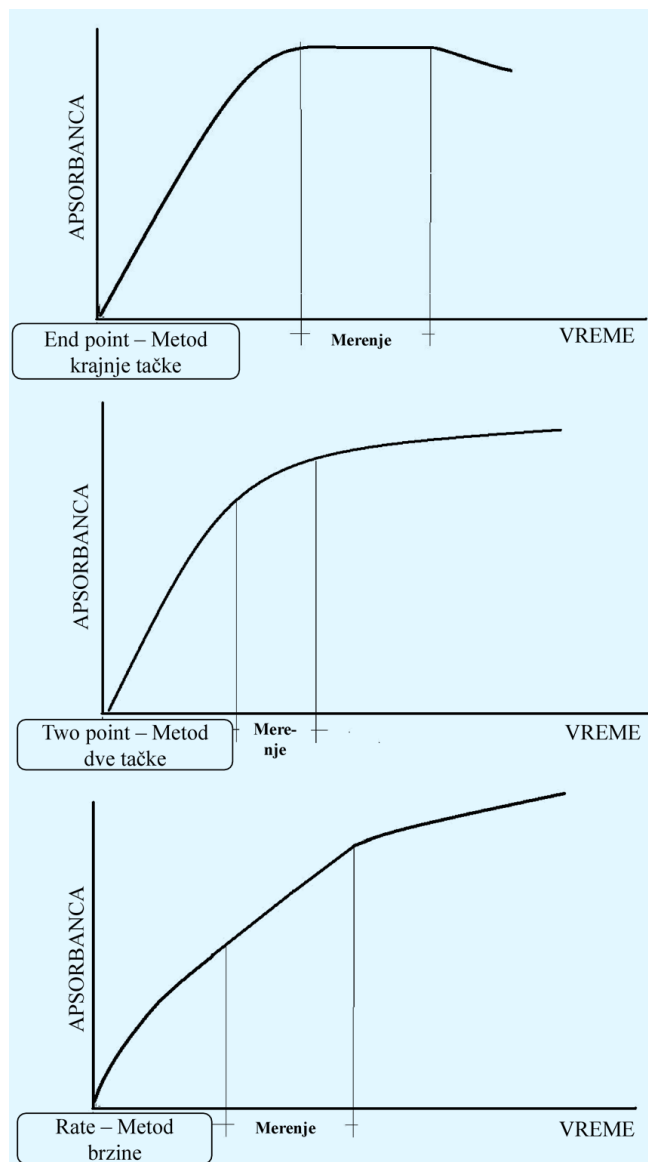
Метода крајње тачке (end point метода) је најједноставнији приступ у којем се мери одговарајући сигнал или промена у параметру (нпр. апсорбанција, флуоресцентност) на крају реакције, када се претпоставља да је реакција достигла стабилно стање. Поступак: У овој методи, аналит реагује са реагенсима у тесту, и реакција траје одређено време док не постигне тачку у којој се сигнал стабилизује. На крају реакције мери се интензитет сигнала (нпр. промена боје, апсорбанција) који је пропорционалан концентрацији анализата. Пример: У тесту ензиматске активности, где се ензими претварају у производ током времена, на крају реакције мери се апсорбанција и користи за израчунавање концентрације анализата. End point метода Користи се када реакција траје довољно дуго да се стабилизује и не показује знатне промене током времена. Погодна је за једноставне тестове где се реакција брзо заврши и не захтева прецизну динамику праћења. Предности: Једноставно и брзо за извођење, јер је потребно само једно мерење на крају реакције. Недостаци: Могуће је да реакција није у потпуности завршена, што може утицати на тачност резултата, посебно ако је реакција спора или није у стању равнотеже. Такође, може бити подложна грешкама ако није прецизно контролисано време или услови реакције.

Метода две тачке (two point метода) користи два мерења током аналитичког теста: једно на почетку реакције и друго након одређеног времена. Разлика у сигнаlima између та два времена користи се за израчунавање концентрације анализата. Поступак: Ова метода се базира на мерењу одговора система на почетку реакције и након одређеног временског периода. Разлика између почетног и финалног сигнала (нпр. промена у апсорбанцији) даје

податке за процену брзине реакције, што омогућава одређивање концентрације анализата. Пример: У тесту активности ензима, сигнал се мери у два тренутка: одмах након што је реагенс додан, и након што је реакција одмакла (нпр. након 10 минута). Разлика у апсорбацији између тих два времена користи се за одређивање ензимске активности. Two Поинт метода користи се када је потребно пратити реакцију у два кључна тренутка, када су оба мерења важна за прецизно израчунавање концентрације. Погодна за процену брзине или динамике реакције, посебно када је потребно упоредити почетне и крајње вредности. Предности: Даје више информација о динамици реакције и омогућава бољу контролу над временским факторима. Коришћење почетног и финалног сигнала може смањити грешке које настају због промена које се дешавају током времена. Недостаци: Потребно је прецизно одредити време између два мерења и бити сигуран да су сви фактори под контролом, како би се избегли фалсификовани резултати због вањских утицаја.

Метода брзине реакције (rate метода) користи брзину реакције за одређивање концентрације анализата, а не само крајњи резултат. У овој методи, сигнал се мери у краћим временским интервалима током реакције како би се пратила динамика промене. Поступак: У овој методи, реакција се прати током времена, и брзина реакције (промена у одговору система по јединици времена) користи се за израчунавање концентрације анализата. То значи да се сигнал мери у неколико временских интервала током реакције, и користи се почетна брзина реакције (која је пропорционална концентрацији анализата) за одређивање концентрације. Пример: У ензимским анализама, брзина реакције је често директно повезана са концентрацијом супстрата или ензима. Мерењем брзине промене апсорбације током реакције, могуће је одредити концентрацију анализата. Рате метода користи се када је потребна већа прецизност у одређивању концентрације анализата, нарочито када реакција има значајну брзину или када је тешко достићи стабилан крај реакције. Погодна за прецизна мерења у хемијским или биохемијским анализама где је динамика реакције важна. Предности: Ова метода је врло прецизна, јер пружа више података о динамици реакције. Такође, омогућава одређивање концентрације анализата у случајевима када је реакција брза или не досеже стабилно стање. Недостаци: Потребно је прецизно мерење у врло кратким временским интервалима, што може захтевати сложенију опрему и пажљиво управљање експериментом.

На основу особина наведених реакција може се закључити да је енд поинт метода је најједноставнија и најбржа, али може бити мање тачна у случајевима када реакција није потпуно завршена; two поинт метода пружа више информација о динамици реакције и може смањити грешке у случају брзих или спорих реакција, а рате метода је најпрецизнија јер прати брзину промене током времена и користи динамику реакције за тачније одређивање концентрације анализата. Избор методе зависи од природе реакције, сложености теста, брзине реакције и потребне тачности.



Методе мерења у биохемијским анализама

Формирање калибрационе криве - је кључни поступак у аналитичким методама које се користе за квантификацију одређених супстанци у узорцима. Калибрациона крива се користи за одређивање концентрације непознате супстанце на основу мерења њеног одговора на одређени аналитички инструмент. Избор методе зависи од природе анализе, карактеристика узорка и инструмента, те циљева анализе. Најчешће коришћене методе за формирање калибрационе криве укључују методу спољног стандарда, унутрашњег стандарда, и метод линеарне регресије. За сложеније узорке или ситуације, могу се користити методе као што су вишеструка или квадратна регресија, као и метод стандардног додатка.

Ево неколико метода које се користе за формирање калибрационе криве:

1. Метода стандардног додатка (Standard addition method) - Ова метода се користи када је узорак комплексан и може садржавати интерференте који утичу на мерење. У овој

методи се узорку додају познате количине стандарда (познате концентрације супстанце која се анализира), а затим се мери одговор система. Калибрациона крива се формира на основу односа између додатих количина стандарда и одговора инструмента. Ова метода помаже у елиминацији ефекта матрице на мерење.

2. Метода спољног стандарда (External standard method) - Ово је најчешћа и најједноставнија метода за формирање калибрационе криве. У овој методи се користи серија стандардних раствора познатих концентрација који се анализирају, а затим се користи одговор инструмента (нпр. интензитет сигнала) за израду калибрационе криве. Калибрациона крива представља однос између одговора и концентрације стандарда. На основу ње се може израчунати концентрација непознате супстанце у узорку. Ова метода се користи када су сви интерференти у матриксу узорка познати или занемарљиви.

3. Метода унутрашњег стандарда (Internal standard method) - Ова метода се користи када се може очекивати да дође до варијација у поступку узорковања, манипулацији узорком или анализи. У овој методи, додаје се позната количина унутрашњег стандарда (који је сличан анализираној супстанци, али се не јавља у узорку) пре него што се узорак анализира. Унутрашњи стандард се користи за корекцију промена у аналитичком процесу. Однос између одговора анализираних супстанци и одговора унутрашњег стандарда користи се за формирање калибрационе криве.

4. Метода линеарне регресије - Линеарно моделирање калибрационе криве често се користи када постоји линеарна веза између концентрације аналита и одговора инструмента (нпр. апсорбације, емитованог светла, итд.). У овој методи, концентрације стандарда се користе као независне варијабле, а одговори инструмента (нпр. сигнал) као зависне варијабле. Корелација између ових података даје линеарни однос који се користи за израчунавање концентрације непознатих узорака. Формула за линеарни модел је:

$$y=mx+by = mx + by=mx+b$$

где је:

у одговарајући сигнал (нпр. апсорбација, интензитет сигнала),

х концентрација аналита,

т нагиб линије (коефицијент који показује променљивост одговора са променом концентрације),

б пресретање са у-осом (коефицијент који показује основни сигнал када је концентрација 0).

5. Метода вишеструке регресије (Multiple regression method) - Ако је однос између концентрације аналита и одговора инструмента сложенији (нпр. ако се одговори зависе од више фактора), користи се вишеструка регресија. Ова метода користи више независних варијабли (на пример, различите врсте сигнала) за предвиђање концентрације аналита. Вишеструка регресија може се користити када је систем подложен утицају више фактора, попут температуре, рН вредности или интерференција других хемикалија.

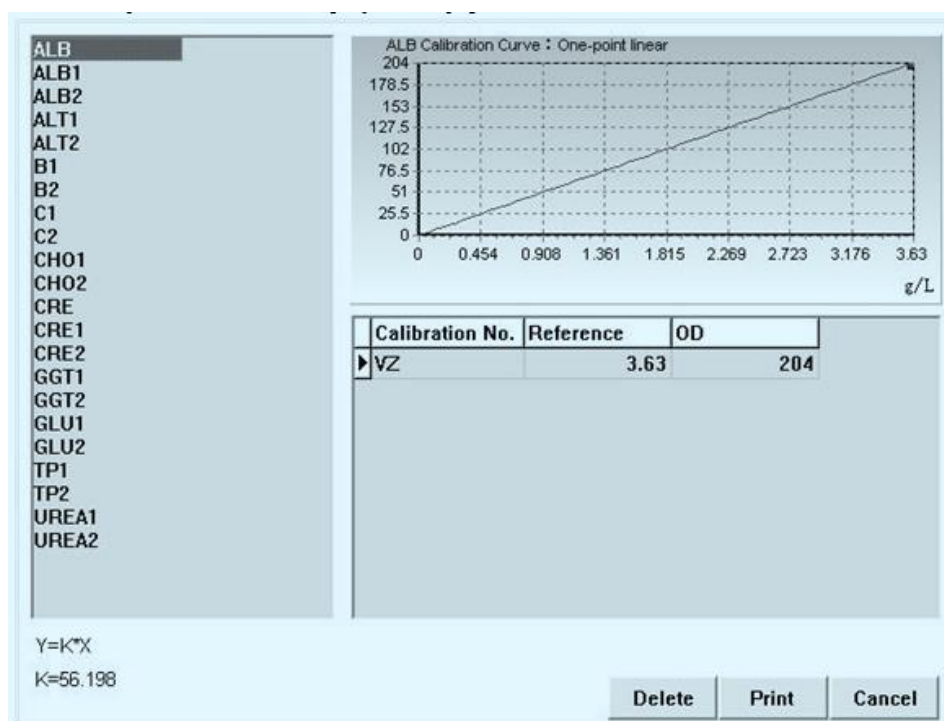
6. Метода квадратне регресије (Quadratic regression method) - Ако линеарни модел не пружа добар фит за податке, квадратна регресија (други степен) може се користити за моделирање нелинеарних односа између концентрације аналита и одговора. Квадратна регресија је корисна када постоји закривљена веза између концентрације аналита и одговора инструмента.

$$y=ax^2+bx+cy = ax^2 + bx + cy=mx^2+mx+c$$

где су а, б и с коефицијенти који се одређују на основу података из калибрационих стандарда.

7. Метода корекције матрице (Matric matching method) - Ова метода се користи када је матрица узорка значајно различита од матрице у којој су припремљени стандарди (нпр. узорци крви, урина, земљишта, итд.). У овој методи, калибрациони стандарди се припремају у матриксу који је што сличнији узорку, како би се минимизирали ефекти интерференција и матрикс ефеката. Затим се користи стандардна метода (спољни или унутрашњи стандард) за креирање калибрационе криве.

8. Метода конверзије (Conversion method) - Ова метода се користи када је потребно користити стандарде или референце из других извора или метода (нпр. користи се конверзија између различитих јединица или између различитих техника мерења). Ово је мање уобичајена метода и обично се користи у специфичним индустријама или научним истраживањима.



Калибрациона крива за одређивање албумин ана спектрофотометру Rayto Chemray (ориг).

4. КОНТРОЛА КВАЛИТЕТА У ЛАБОРАТОРИЈИ

Одређени облик контроле квалитета у основи је увек био присутан. Са развојем индустрије и масовном производњом повећана је потреба за контролом квалитета производа. Први статистички приступ за обезбеђивање квалитетног рада извршили су *Dodge* и *Shevart* око 1930. године у компанији *Bell Telephone Company*. Године 1947. *Белк* и *Сундерман* су извршили прву контролу међу клиничким лабораторијама (то су хумане лабораторије), што је открило велике разлике међу њиховим резултатима. Године 1950. *Levey-Jennings* је дошао до идеје да свакодневно врши анализу контролних узорака и графички приказује добијене резултате путем израде контролних картица. Године 1953. за биохемијске лабораторије развијен је први контролни серум који је од тада био доступан свим корисницима. Комерцијални контролни материјал за све хематолошке параметре први пут је био доступан само уз појаву аутоматског хематолошког апарата крајем 1960-их година. Нажалост, развој контроле квалитета рада хематолошких лабораторија није толико развијен и завршен како је сада у биохемијским лабораторијама. Разлог за то је припрема материјала који садржи ћелијске компоненте, што узрокује специфичне проблеме, посебно у погледу стабилности материјала за дужи период. Све наведено се односи на хумане лабораторије, стога у ветеринарству, посебно у области хематологије, развој контроле је још тежи због специфичности и разноврсности животињских врста. Године 1970. *Paine* је увео тест метаболичког профила, који укључује разне хематолошке и биохемијске анализе, такође ради редовне здравствене контроле и откривања субклинички насталих метаболичких поремећаја. После 1970. године направљено је неколико различитих тестова метаболичког профила, који су укључивали различите параметре, у зависности од потреба корисника. Сав овај развој је такође довео до повећања броја различитих лабораторија укључених у анализу узорака за ветеринарске потребе. Резултат овог развоја такође има негативну страну, што се огледа у смањеној сарадњи ветеринарских клиника и аналитичара у лабораторијама. 1989. године Ветеринарски факултет у Утрехту је у сарадњи са Службом за здравствену заштиту животиња у Девентеру у Холандији организовао *Програм за размену ветеринарских узорака*, *BCE* - *енг. Veterinary Sample Exchange*. Програмом се желело постићи следеће: идентификовати разлике између ветеринарских лабораторија, утврдити утицај транспорта, хемоллизе и складиштења на резултате, усклађивање аналитичких процедура, побољшати квалитет резултата и - обавестити клинике о томе како интерпретирати резултате са одговарајућим референтним вредностима. *BCE* је било прво поређење резултата ветеринарских лабораторија у Европи у области хематологије и биохемије и био је једини специфични ветеринарски програм за међулабораторијска поређења хематолошких и биохемијских анализа у Европи. Са *BCE* програмом показан је статистички значајан висок утицај транспорта и хемоллизе на свим резултатима анализа. 2001. године програм ветеринарских поређења прекинут је епидемијом слинавке и шапа у Европи, али нажалост, програм није обновљен и настављен након завршетка епидемије. Постоји неколико међународних међулабораторијских контрола које укључују хумане и ветеринарске лабораторије са различитим параметрима и апаратима. Специфичне ветеринарске организације које упоређују само ветеринарске лабораторије знатно су мање (нпр. ВЛА, Канада и ДЕФРА, УК). У последњих неколико година повећана је тенденција осигурања квалитета рада у ветеринарским лабораторијама. Први извори у овој области

долазе из САД. У 2013. години објављена је и прва одобрена верзија "**АСВЦП смерница за допуштену заједничку грешку**" коју је издао АСВЦП одбор за осигурање квалитета и стандарде рада (АСВЦП-Америчко удружење за ветеринарску клиничку патологију; *ASVCP - American Society for Veterinary Clinical Pathology*).

Контрола квалитета започиње коришћењем јединствених препорука које лабораторија шаље свим ветеринарима и власницима у циљу добијања што **квалитетнијег и уједначенијег узорка**. Приликом узимања крви за слање у ветеринарску лабораторију потребно је да сваки власник и ветеринар имају следећу листу провере испред себе:

- ✓ Истражити историју болести и клиничку дијагнозу
- ✓ Одредити анализе крви од интереса
- ✓ Проверити анализе за интеракције (ефекти везани за животиње, ефекти повезани са техником)
- ✓ Проверити оптималну вену за узорковање
- ✓ Одабрати одговарајуће цеви, игле и антикоагуланте (консултујте лабораторију)
- ✓ Обезбедити опрему за одговарајућу заштиту животиње, укључујући вену
- ✓ Обележити тубе пре узорковања помоћу трајних маркера
- ✓ Проверити и припремити потребне услове складиштења и транспорта
- ✓ Припремити запис о узорку
- ✓ Правилно задржати животиње
- ✓ Избежавати затварање вене више од 1 мин
- ✓ Поступак сакупљања започиње са најосетљивијом узорковањем (ћелијска анализа / хематологија), наставити са плазмом, коначно узети серум; Имати на уму да К-ЕДТА може контаминирати следећи узорак.
- ✓ Ако је проток крви прекинут током сакупљања одбацити вакутајнер за сакупљање и наставити са новом цевчицом, да би избегли хемолизу узорка
- ✓ Избежавати аспирацију узорка с претераном силом / турбуленцијом
- ✓ Вакутајнере испунити до нивоа који је одредио произвођач
- ✓ Мешати антикоагуланс и крв, као и акцелератор коагулације и крв одмах уз пажљиво обртање епрувете за сакупљање пет до осам пута, не треба мућкати епрувете
- ✓ Дозволити серуму да заврши настанак коагулума током 30 минута без кретања у усправном положају на собној температури
- ✓ Узорке центрифугирати у периоду од 1 h од сакупљања и одмах пребацити серум / плазму у нови вакутајнер или одговарајућу посуду
- ✓ Чувати одвојени серум / плазма у мраку на 4°C
- ✓ Узорке намењене за хематологију чувати на собној температури, али не дуже од 2 дана;
- ✓ Одмах направити крвне размазе за анализу морфологије ћелија
- ✓ Забележити било какву абнормалност током поступка у запису узорковања, јер то може помоћи у разумевању добијеног неуобичајеног резултата
- ✓ Приложити запис, примерак случаја са заштитним паковањима и хладним паковањем
- ✓ Избежавати слање узорка током викенда

Спољашња процена квалитета (енг., *External Quality Assessment, EQA*)

представља процену квалитета рада медицинских лабораторија од стране екстерних организација/агенција. Врши се одређивање перформанси лабораторијског испитивања путем међулабораторијских поређења (енг., *Interlaboratory Comparison, ILC*), у којој EQA програм периодично шаље један или више контролних узорака члановима групе медицинских лабораторија, а EQA програм затим упоређује резултате за сваку лабораторију са резултатима других лабораторија у групи и/или са додељеним вредностима. EQA програм не мора да буде ограничен само на процену аналитичке фазе укупног процеса медицинске лабораторије већ може да се прошири и укључује и преаналитичку и постаналитичку фазу. Термин EQA одговара термину испитивање оспособљености (енг., *Proficiency Testing, PT*). У литератури се котисте изрази EQA/PT програм и EQA/PT шема.

Постоји више **националних водича за спровођење спољашње контроле квалитета**. У тексту који следи даћемо изводе стручно-методолошког упутства које је издала стручна комисија за медицинску и клиничку биохемију Р.Србије при Министарству здравља (15): а) EQA програм треба да буде организован тако да његово спровођење тече континуирано, без већих прекида и да буде отворен за било коју лабораторију; б) Одабир и одобрење за организацију EQA програма, као и одговорне особе/руководиоца EQA програма је важан процес који може да утиче на квалитет и успешност програма. Организатор EQA програма мора да располаже одговарајућим ресурсима за обављање свих активности потребних за његово спровођење. Потребно је да руководиоца EQA програма поред одговарајуће квалификације/обуке има и успостављену репутацију и ауторитет у области коју програм покрива. Неопходно је да одговорна особа/руководилац EQA програма подноси извештај о спровођењу програма, најмање једном годишње организатору програма као што је стручна комисија и ресорно министарство; ц) Организатор EQA програма је у обавези да континуирано врши евалуацију корисности програма који се спроводи, прикладност и квалитет контролних узорака; д) Спровођење EQA програма захтева стална новчана средства како за набавку контролних материјала, поштанске трошкове, административно и професионално време за руковођење програмом. Неопходно је да постоји договор на нивоу ресорног Министарства око начина финансирања од стране државе, учесника или на неки други начин; е) Препоручује се да организатор EQA програма испуњава специфичне захтеве компетентности потребне за акредитацију њихових програма према међународном стандарду *ISO/IEC 17043 Conformity Assessment – General requirements for proficiency testing*; ф) Материјали - У EQA програму поред контролних материјала могу да се користе потрошни материјали, реагенси и калибрациони материјали. Интернационална федерација за клиничку хемију и лабораторијску медицину (IFCC) дефинише контролне материјале као "узорке или растворе који се одређују у циљу контроле, а не за калибрацију". Избор одговарајућег контролног материјала зависи од броја одређиваних параметара, као и од примењених метода за њихово одређивање. У идеалном случају контролни материјал треба да садржи исти матрикс као и узорак који се користи за одређивање (пуна крв, серум/плазма, ликвор, урин итд.). У контролним материјалима концентрације анализата треба да су у нормалним и патолошким границама, које одговарају концентрацијама критичним за медицинску интерпретацију резултата. г) Информација о дугорочној

процени може да буде исказана преко индекса стандардне девијације (SDI) који се означава и као “Z” скор. Применом система скорова омогућено је да учесник пореди своје извођење са извођењем осталих лабораторија у исто време, као и са својим претходним извођењем. У тумачењу резултата преко треба да се придржавају следећег: уколико је SDI од 0 до 0,5 резултат је одличан, уколико је SDI од 0,5 до 2 резултат је добар, уколико је SDI већи од 2 резултат је лош. Резултати се сматрају прихватљивим ако је вредност SDI за 80% појединачних резултата од укупног броја резултата у једном циклусу EQA програма мања од 2.

Прве статистичке контроле у клиничким лабораторијама педесетих година прошлог века су препоручиле одређивање узорка у дупликату, као и контролну карту у коју се уноси средња вредност и распон два мерења. Одувек се постављало питање да ли је добијена нумеричка вредност тачна. У лабораторијској пракси свакодневно се спроводи унутрашња контрола квалитета (енгл. *Internal quality control – IQC*) помоћу комерцијалних контролних узорака којом се процењују аналитичка непрецизност и аналитичка нетачност метода одређивања сваке претраге поређењем с границама допуштеног одступања. Тиме се осигурава аналитичка поузданост резултата претрага. Аналитичка процена резултата претрага, такође укључује и проверу вероватности аналитичких резултата претрага: контролу констелације резултата и контролу екстремних вредности. Осим редовне унутрашње контроле квалитета, професионална обавеза лабораторија је учешће у програмима спољашње контроле квалитета.

Према Европском комитету за клиничке лабораторијске стандарде (ECCLS) препорукама, евалуација квантитативних реагенаса може обухватити следеће поступке:

- ✓ мерење непрецизности,
- ✓ тест искоришћења,
- ✓ проверу карактеристика калибрацијске криве (линеарност),
- ✓ разређење узорка,
- ✓ поређење с неким другим мерним поступком,
- ✓ проверу тачности помоћу трговачких контролних материјала или референтних материјала (узорци који се користе при спољашњој контроли квалитета)
- ✓ мерење следеће пробе реагенаса и одређивање стабилности,
- ✓ одређивање граница детекције
- ✓ испитивање специфичности и утицаја интерференција (нпр. хемолиза),
- ✓ испитивање узорака животиња са познатим клиничким стањем и
- ✓ бележење субјективних запажања.

Контролни материјал треба да садржи исти матрикс (супстанцу или основу) као и узорак, који се користи за одређивање (пуна крв, серум, плазма итд.). Контролне серуме правимо најчешће од говеђег серума, који је лиофилизован. При избору се мора водити рачуна о факторима као што су утицај матрикса, стабилност, варијације од бочице до бочице, концентрацијама параметара или проблемима везаним за њихов претретман. Уколико могућности дозвољавају, треба извршити набаву контролног материјала истог “лот-а” за најмање годину дана, пошто је већина комерцијалних контролних материјала стабилна најмање две године. Концентрација параметара у контролном материјалу треба да буде таква да покрије нивое при којима се доносе медицинске одлуке или критичне

тачке при одређивању. Постоје контролни материјали са *одређеном* (енгл. assayed) и *неодређеном* вредношћу. Контролни материјали са одређеном вредношћу су скупљи, јер долазе са листом очекиваних вредности параметара одређених на различитим анализаторима или са референтним методама. Погодни су за мање лабораторије, за проверу тачности метода, као и за решавање проблема при одређивању уколико постоји системска грешка.

Контролни материјали су комерцијално доступни у лиофилизираном или течном стању, запаковани у бочице запремине 3 или 5 mL. Уколико су у лиофилизираном стању, треба да се реконструишу и стабилни су 48 сати. После реконструкције могу се разлити у мање порције нпр. 0,5 mL и до употребе чувати на -20°C. Поступак реконструкције комерцијалних лиофилизованих контролних материјала треба да буде строго стандардизован. Коришћење волуметријских пипета класе А, дејонизирана вода типа I, као и строго придржавање времена мешања контролног материјала смањује варијације, које потичу од бочице до бочице. Међународна федерација за клиничку хемију (IFCC) дефинише контролне материјале као узорке, који се користе за контролу а не за калибрацију. Контролне материјале треба набављати од произвођача, који су специјализовани за њихову производњу. Уобичајно је да се у комплекту набављају реагенси и контролни материјали.

Контрола квалитета се спроводи континуирано. Сваког дана се заједно са узорцима пацијената ураде и контролни материјали. Уколико контролна вредност не задовољава, резултати пацијената не смеју да се издају. Поступку континуиране контроле претходи предконтролни период, који укључује два различита контролна узорка (препоручује се да један буде са нормалним, а други са патолошким садржајем) при стандардним рутинским условима, да би се окарактерисале варијације у одређивању и добила очекивана расподела вредности. Предконтролни период треба да буде што дужи да би се укључили сви утицаји, који постоје у клиничко-биохемијској лабораторији (промена више оператора, промена серије реагенса, промена у методи, игли којима се пипетирају узорци и реагенси, пипете, итд.). Овај период у пракси најчешће износи месец дана. Из добијених вредности израчунавају се статистички параметри као што су средња вредност, стандардна девијација и коефицијент варијације. Израчуната средња вредност за контролни материјал говори о централној тенденцији очекиване расподеле уколико је извођење методе стабилно. Било која промена у тачности, као што је системско одступање утицаће на средњу вредност контролног материјала. Средња вредност говори о тачности или системској грешки. Израчуната стандардна девијација за контролни материјал говори о ширини дистрибуције контролних резултата око очекиване средње вредности. Стандардна девијација говори о непрецизности или случајној грешки. Уколико је виша вредност стандардне девијације, већа је случајна грешка и лошија прецизност методе.

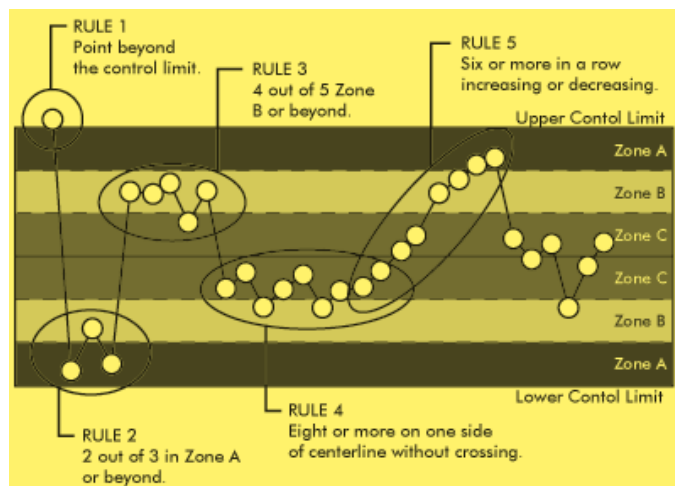
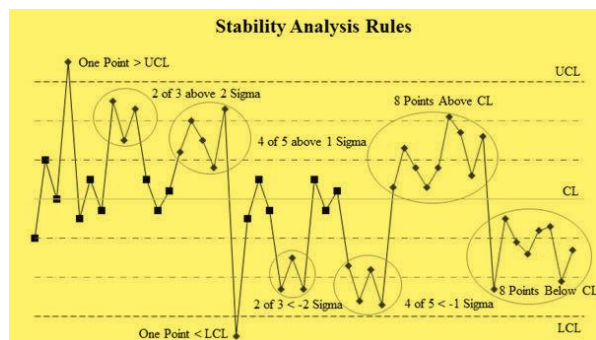
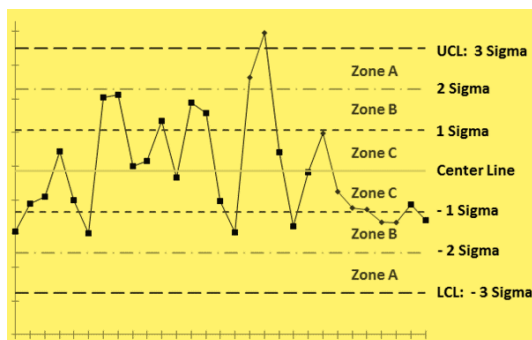
Контрола квалитета се може изводити на неколико начина, и то: 1) контрола “данас-данас” у току које се један те исти узорак анализира истом методом двапут у истом дану. Добро је провести у различитим серијама у току обраде узорака; 2) контрола “дан-на дан” која се проводи, тако да се узорак од јуче анализира истом методом у серији с данашњим узорцима; 3) контрола помоћу комерцијалних контролних серума, дакле, серума који се купују од различитих добављача, а садрже познате концентрације материје, која се испитује; 4) контрола помоћу “pool-а серума” за коју се у лабораторију скупи одређени број преосталих серума од завршених анализа, приближно уједначених резултата у различитим подручјима вредности (поол за ниске, pool за референтне и pool

за високе вредности), хомогенизује, одреди распон вредности и расподели у низ бочица или епрувета, замрзне и свакодневно обради као непознати узорак. За статистичку обраду података користи се израчунавање тачности, прецизности и репродуцибилности у сврху оцењивања ваљаности аналитичке методе и ваљаности рада. У клиничким лабораторијама се могу добијати резултати који могу бити: а) тачни и прецизни – најбоља могућност, б) нетачни и прецизни – увек једнака погрешка, што је непожељна могућност, в) нетачни и непрецизни – најгора могућност, која се у лабораторијама не сме догађати.

Контролне карте или контролни дијаграми су један од темељних алата осигурања квалитета рада у ветеринарским лабораторијама за одређивање биохемијских параметара. Дијаграмима се графички приказује да ли је испитивани аналитички систем у стању аналитичке контроле, дијагностикују се мерни проблем и евидентира мерна несигурност. У медицинским лабораторијама контролни дијаграми служе, пре свега, за превенцију нетачних резултата, а мање за њихово откривање и одбацивање. Контролне карте представљају статистички и графички начин упоређивања вредности, које су добијене анализирањем контролног узорка са вредностима, које су за тај узорак назначене.

Опште смернице за конструкцију контролног дијаграма су: идентификовање елемената састава дијаграма, избор својства који ће се мерити (нпр. концентрација), дефинисати поступак добијања случајног узорка, наћи поуздану процену аритметичке средине, стандардног одступања или распона, нацртати средишњу линију и граничне линије. Контролне границе су линије повучене на контролној карти да би се обезбедио графички критеријум у процени да ли мерни поступак задовољава или незадовољава. Израчунавају се средња вредност и стандардна девијација за дати контролни материјал. Типична интерпретација се заснива на томе да ли се специфичан број резултата налази изван извесне контролне границе. У зависности од резултата одлучује се о издавању резултата пацијента. Контролна правила представљају критеријуме, који се примењују да би се оценило да ли резултати аналитичке серије задовољавају или незадовољавају.

У доношењу закључака најчешће се примењују два контролна правила: 1(2SD) или 1(3SD). 1(2SD) правило – једна контролна вредност је изван граница ($X \pm 2SD$). Оно се често користи и њоме се обезбеђује откривање великог броја грешки. Ако је вредност контролног узорка унутар границе ($X \pm 2SD$) метода је под контролом и резултати пацијената могу да се издају. 1(3SD) правило – једна контролна вредност је изван границе ($X \pm 3SD$). Ово правило даје мањи број лажних одбацивања, односно откривање мањег броја грешака. Резултати пацијената се не издају кад се резултат контролног узорка налази изван граница ($X \pm 3SD$). Када се утврди да је систем изван контроле треба утврдити тип грешке, тј. да ли је случајна или системска, а затим проверити који су недостаци методе или апарата у вези са установљеним типом грешке. Када се исправи недостатак, који је довео до грешке, поново се обрађују контролни узорци. Узорци пацијената не морају увек да се понављају када се установи грешка у контроли квалитета, а то се односи на следеће ситуације: грешка у контроли може бити везана са самим контролним материјалом, грешка у контроли може да буде изолован догађај у вези само са контролним материјалом, а и не за целу серију узорака пацијента, величина аналитичке грешке је незнатна у односу на клиничке захтеве, јер некад је важније време за које ће се резултат добити него сама апсолутна тачност резултата.



Изглед контролних карата, правила у анализи варијабилности у PREVECAL систему

BioSystems S.A
c/ Costa Brava 30
www.prevecal.net
+34933110000

PREVECAL

EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT PROGRAM
PROGRAM VETERINARY
Code: 140165

Report JANUARY - 2020

06/02/2020

	Obtained result	Units	Level of comparison	Relative error (%)	Z-Score	Performance
Alanine aminotransferase	128,1	U/L	Method	-9,48	-0,83	Acceptable
Albumin	41,47	g/L	All Method	0,84	0,09	Acceptable
Alfa-amylase	295,4	U/L	Method	-4,95	-0,82	Acceptable
Aspartate aminotransferase	209,52	U/L	Method	18,07	1,9	Acceptable
Total bilirubin	88,39	umol/L	Method	-20,99	-1,08	Acceptable
Calcium	2,83	mmol/L	All Method	-7,11	-0,9	Acceptable
Cholesterol	5,91	mmol/L	All Method	-7,46	-1,53	Acceptable
Creatine kinase	575,1	U/L	Method	-0,93	-0,11	Acceptable
Creatinine	399,42	umol/L	Method	-0,19	-0,02	Acceptable
Alkaline phosphatase	241,25	U/L	Method	-22,41	-1,71	Acceptable
Inorganic Phosphate	2,8	mmol/L	All Method	0,04	0	Acceptable
Glucose	13,68	mmol/L	All Method	-7,07	-1,26	Acceptable
Gamma-Glutamyltransferase	159	U/L	Method	-14,05	-2,21	Acceptable
Lactate dehydrogenase	904,5	U/L	Method	1,89	0,16	Acceptable
Magnesium	1,28	mmol/L	All Method	2,16	0,22	Acceptable
Protein	76,92	g/L	All Method	-3,36	-0,49	Acceptable
Triglycerides	2,32	mmol/L	All Method	-0,94	-0,18	Acceptable
Urea	20,63	mmol/L	All Method	-11,28	-1,23	Acceptable
Lipase	105,3	U/L	Method	2,24	0,23	Acceptable

Резултат екстерне контроле квалитета Лабораторије за патолошку физиологију
Лабораторије за патолошку физиологију у PREVECAL систему

Термини које треба познавати приликом оцене квалитета су тачност, прецизност, аналитичка варијација и укупна дозвољена грешка. Ови термини су у основни практичне примене поменутих контролних карата и описују различите врсте варијабилности параметара.

Тачност (енг., *Accuracy*)- Према ISO 5725-1, општи термин "тачност" користи се за описивање блискости мерења са правом вредношћу. Када се овај термин примењује на скупове мерења истог мерног објекта, укључује компоненту насумичне грешке и компоненту системске грешке. У овом случају, истинитост представља блискост просечне вредности скупа резултата мерења са стварном (правом) вредношћу, што је системска грешка, док прецизност означава блискост сагласности међу скупом резултата, што је насумична грешка. Што је измерена вредност са инструмента ближа „реалној“ или „актуелној“ вредности у узорку, то је тачност већа. Тачност се одређује разликом између добијеног резултата и стварног резултата, што се такође назива пристрасност, која може бити позитивна (ако је измерени резултат већи од стварног) или негативна (ако је измерени резултат мањи од стварног). Пристрасност се може изразити као апсолутна вредност или као проценат стварне вредности.

- Апсолутна пристрасност = Измерена вредност – стварна вредност
- Проценат пристрасности = $((\text{Измерена} - \text{стварна вредност}) \div \text{стварна вредност}) \times 100$
- Константна пристрасност: Пристрасност је доследно позитивна или негативна. Константна пристрасност може се утврдити из пресека регресионе криве.
- Насумична пристрасност: Пристрасност је понекад позитивна или негативна или је одсутна.
- Пропорционална пристрасност: Пристрасност је пропорционална (негативна или позитивна) концентрацији анализата. Пропорционална пристрасност може се утврдити из нагиба регресионе криве.

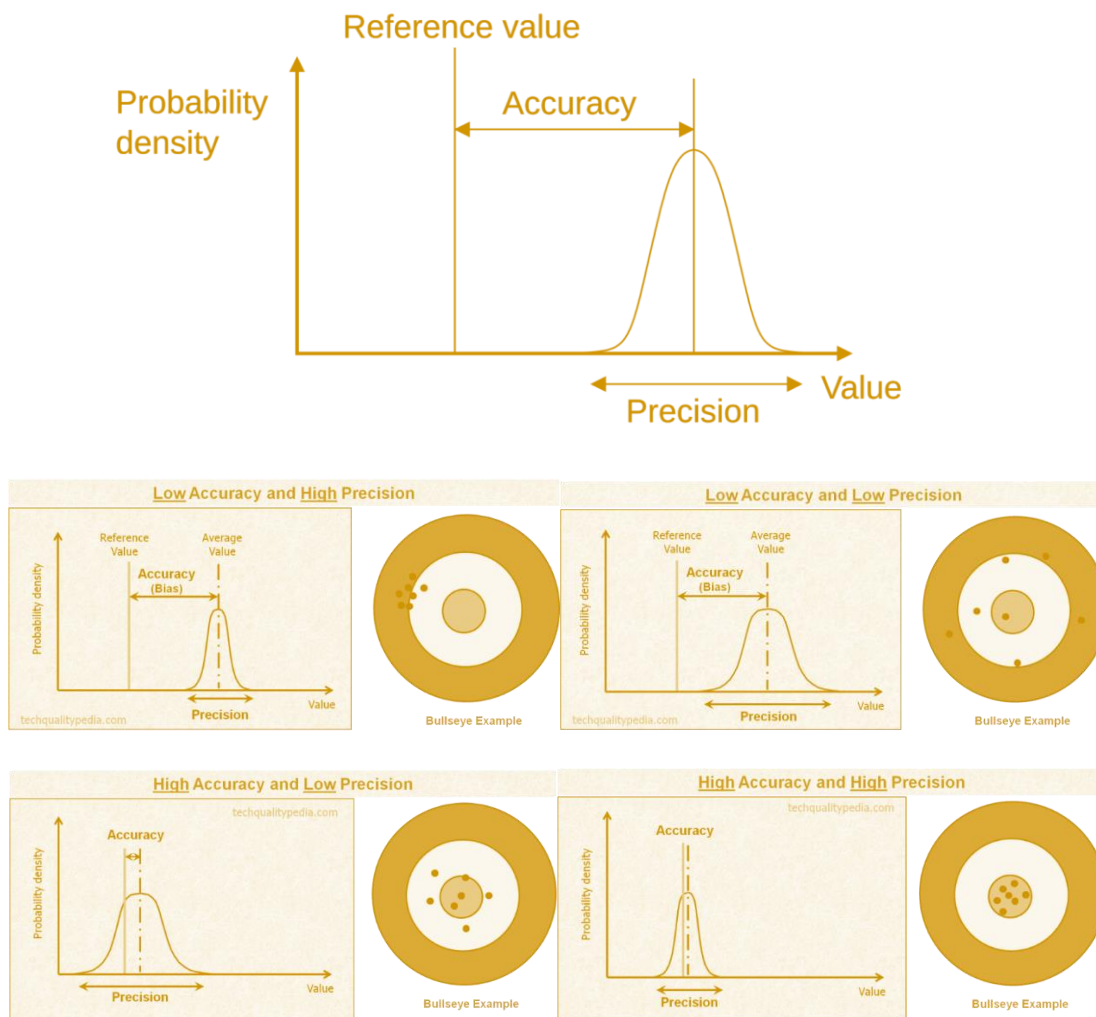
Дакле, тачност се односи на то колико су дати скуп мерења (посматрања или читавања) близу своје праве вредности. Прецизност означава колико су мерења блиска једно другом. Међународна организација за стандардизацију (ISO) дефинише сродну меру: истинитост, "блискост сагласности између аритметичке средине великог броја резултата тестирања и праве или прихваћене референтне вредности."

Прецизност (енг., *Precision*)- Што су поновљена мерења истог узорка ближа, то је инструмент прецизнији. Прецизност се одређује коефицијентом варијације или стандардном девијацијом (распон података) у односу на средњу вредност. Ово се изражава као проценат и може бити унутар серије (или дана) или између серија (или дана).

- Коефицијент варијације = $(SD \div \text{средња вредност}) \times 100$
- Прецизност унутар серије: Ово се одређује мерењем истог узорка (обично 3-5 различитих узорака који представљају нормалне, високе и ниске вредности анализата) 10-20 пута у једној серији, користећи исти инструмент, методу и реагенс.
- Прецизност између серија: Ово се одређује мерењем истог узорка (обично 3-5 различитих) два пута дневно током 5 различитих дана или једном дневно током 10 дана (уколико је аналит стабилан при складиштењу), обично уз различите операторе, али са истим инструментом, методом и реагенсом. Прецизност између серија обично је већа од прецизности унутар серије.

Већина лабораторија прати и контролише прецизност између серија обављањем дневних контрола сваки пут када је инструмент у раду.

Прецизност обухвата: **поновљивост** — варијација која настаје када се предузимају сви напори да се услови одрже константним коришћењем истог инструмента и оператора, уз понављање у кратком временском периоду; и **репродуктивност** — варијација која настаје коришћењем истог мерног процеса међу различитим инструментима и операторима, као и током дужих временских периода.



Одност тачности и прецизности

Аналитичка варијација - Ово обично обухвата прецизност унутар и између серија и пристрасност, али за мерење индекса индивидуалности обухвата обично само прецизност између серија.

Укупна дозвољена грешка (Allowable Total Error, TEa)- Ово је максимална дозвољена грешка за одређени тест. Прихватљива грешка (или разлика између једног мерења и другог на истом инструменту) за различите хематолошке, коагулационе, биохемијске, имунолошке и ендокринолошке тестове утврђена је прописима. TEa је термин који се користи у лабораторијама за дефинисање максималног прихватљивог нивоа грешке у резултатима лабораторијских тестова. Овај параметар је кључан за обезбеђивање квалитета и тачности лабораторијских анализа, јер означава границу до које грешка у резултату тестирања може бити присутна, а да се и даље сматра прихватљивом за медицинске и дијагностичке сврхе. *Allowable Total Error (TEa)* је **максимална грешка која се дозвољава у лабораторијском тестирању, а да резултат и даље буде прихваћен као тачан и користан за клиничку интерпретацију**. TEa узима у обзир све изворе грешака у лабораторијском процесу, укључујући: системске грешке (које се јављају због несавршености у опреми, реагенсима или процедурама) и насумичне грешке (које су последица варијација у процесу, попут флукуација у температури, људских грешака и сл.).

Компоненте TEa су:

1. Системска грешка (bias): Грешке које настају када постоји систематско одступање између стварних и измјерених вредности. На пример, ако инструмент стално показује вредности које су веће или мање од стварних вредности.
2. Прецизност (imprecision): Грешке које настају због насумичних варијација у процесу тестирања. Ово укључује варијације које се јављају при поновљеним тестирањима истог узорка.

TEa се дефинише тако да узима у обзир и прецизност и тачност у лабораторијском тестирању и омогућава лабораторијском особљу да зна која су максимална одступања од референтних вредности која још увек неће угрозити квалитет дијагностичких одлука.

Формула за allowable total error (TEa) може бити дата као: $TEa = Bias + Imprecision$, а још се назива и Critical Error Limit (CEL), тако да је биас (системска грешка) представља разлику између очекиване вредности (или циљне вредности) и стварне вредности и Импреисион (прецизност) представља варијације које настају у процесу тестирања.

TEa је различит за различите тестове и зависи од тога како су ти тестови релевантни за клиничке одлуке. На пример, тестови који се користе за праћење тешких стања као што су кардиоваскуларне болести или сепса, обично имају ниже дозвољене вредности TEa јер су потребни високи нивои тачности. С друге стране, за неке рутинске тестове као што су основни тестови крви (као што су хемоглобин, леукоцити, и други), TEa може бити нешто већа, јер мања одступања можда неће имати толико озбиљне последице у дијагнози.

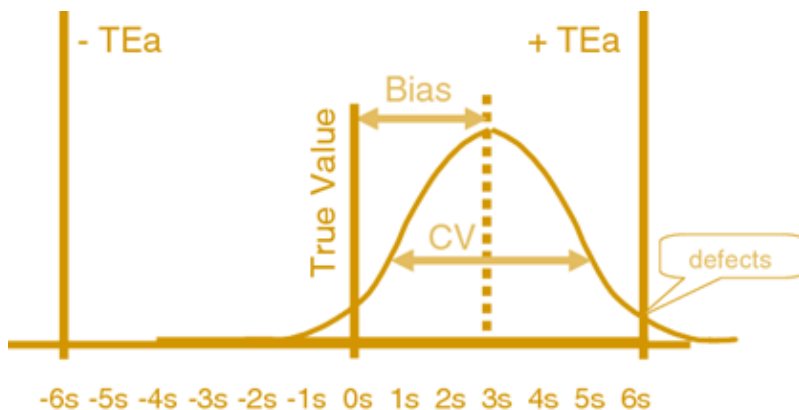
Лабораторије користе TEa како би: евалуирале перформансе тестова (мерење грешака у лабораторији помаже у процени да ли су резултати у оквиру прихватљивих граница за дијагностику), контролисале квалитет (постављањем граница за максималне грешке, лабораторије могу одржавати висок квалитет у својим анализама, чиме се смањује ризик од нетачних резултата), побољшавале прецизност опреме (ако лабораторија примети да одступања од дозвољене грешке премашују TEa, мораће да побољша калибрацију опреме или промене процедуре тестирања).

TEa је кључни показатељ у системима контроле квалитета (QC) који лабораторије користе како би обезбедиле да резултати тестова буду тачни и корисни за клиничку интерпретацију. Употребом метода попут просечне грешке (биас) и стандардне девијације

(која мери варијацију) лабораторије могу прецизно пратити перформансе својих инструмената и анализа.

Лабораторије редовно спроводе провере квалитета кроз интерну контролу и спољашње акредитације да би се осигурало да грешке не премашују ТЕа, чиме се гарантује да резултати тестова остану тачни и поуздани. Смањење ТЕа кроз побољшање тачности, прецизности и контроле квалитета омогућава лабораторијама да побољшају свој рад и повећају сигурност пацијената.

Када постоји велика грешка потребно је проналаизирате узроке великог одступања између мерења, што је приказано на следећој табели.



Однос непрецизности (CV), нетачности (Bias) и максимално дозвољене грешке (ТЕа) у предвиђању дефекта вредности (Westgard, 2015)

Провере које треба спровести у лабораторији када два узастопна мерења из истог узорка или два мерења од истог пацијента не дају приближне резултате

Поновно тестирање (актуелни или предходни узорак)	1. Тестирање поновљено из примарног вакутајнера 2. Тестирање поновљено од оригиналне аликвоте 3. Тестирање поновљено из новог аликвота 4. Извршили додатне (неуређене) тестове
Провера узорка (актуелни или предходни узорак)	1. Проверити постојање липемије, хемолизе и иктеруса 2. Провери постојање коагулума 3. Провери да ли је примарни вакутајнер лоше обележен 4. Проверити да ли је аликвот погрешно обележен
Аналитичке провере (актуелни узорак)	1. Провера осталих резултата из осталих тестираних узорка 2. Провера параметара контроле квалитета 3. Поновно извиђење тестова за контролу квалитета 4. Поновно тестирање узорка после калибрације 5. Поновно тестирање после отклањања проблема на инструменту
Клиничко разматрање	1. Провера медицинске документације 2. Провера да ли је животиња под терапијом (посебно инфузија, трансфузија) 3. Контактирање ветеринара који су узимали узорке / опсервирани животиње
Остале активности	1. Провера софтвера и интерфејс апарата као и ЛИС 2. Провера калкулације 3. Провера ситуације са запосленима у лабораторији 4. Тражење новог узорка 5. Провера других преаналитичких проблема 6. Провера других аналитичких проблема 7. Провера других постаналитичких проблема
Идентификовање проблема током тестирања у актуелном или предходном узорку	1. Провера аналитичке грешке мерења 2. Израчунавање грешке 3. Коагулисан узорак 4. Погрешно унешени подаци 5. Интерференција унетих података 6. Одлагање анализа 7. Одлагање транспорта 8. Хемолиза, липемија, иктерус 9. Неадекватно транспортовање (температуре, светлост) 10. Неадекватно руковање (дилуција, аликвот) 11. Неадекватно обележен узорак 12. Неадекватно обележен аликвот 13. Контаминација узорка 14. Лоше обележен контејнер за транспорт 15. Остало
Нема идентификованих проблема	1. Узроци повишених делта цхецк вредности нејасни 2. Делта цхецк изазван физиолошким варијацијама 3. Делта цхецк изазвана трансфузијом или инфузијом 4. Други проблем који нису у вези са делта цхецк

Шест сигма (Six Sigma) правило у медицинској лабораторији односи се на примену методологије која има за циљ минимизирање грешака и повећање тачности и прецизности лабораторијских резултата. Six Sigma је приступ који се користи за побољшање процеса и смањење варијације у производњи и услугама, али се све више примењује и у здравству, укључујући медицинске лабораторије.

Основни принципи Six Sigma методологије у лабораторијама су:

1. Дефинисање проблема: У лабораторији, ово значи идентификовање специфичних циљева који се желе постићи, као што су смањење броја грешака у анализама, повећање тачности резултата, смањење времена чекања на резултате или оптимизација трошкова.
2. Мерење процеса: Прикупљање података о тренутном стању лабораторијских процедура, као што су брзина анализа, тачност опреме, број грешака у резултатима и сл.
3. Анализа података: Идентификовање узрока грешака или варијација у процесу. На пример, може се открити да неки инструменти нису правилно калибрисани, или да је људска грешка узрок несигурности резултата.
4. Побољшање процеса: Имплементација стратегија и промена како би се смањила варијација и грешке. Ово може обухватити обуку особља, аутоматизацију, побољшање процедура или улагање у прецизнију опрему.
5. Контрола: Увођење стандарда и праћење имплементираних промена како би се осигурало да се постигнути побољшања одржавају дугорочно.
6. Одржавање: Континуирана анализа и прилагођавање процеса како би се осигурао дугорочан успех и даље побољшање.

У контексту медицинске лабораторије, шест сигма значи смањење броја грешака на мање од 3.4 грешке на милион покушаја. То је еквивалент високом нивоу поузданости, што је од кључне важности у медицинској лабораторији где грешке могу имати озбиљне последице за пацијенте. Конкретни циљеви Six Sigma у медицинским лабораторијама укључују: смањење грешака у анализи узорака (нпр. нетачни резултати, контаминација узорака), оптимизација времена обраде узорака, смањење времена чекања на резултате, повећање ефикасности у руковању опремом и смањење застоја, унапређење квалитета услуга и тачности дијагностичких резултата. Кроз примену Six Sigma, лабораторије могу пружити тачне, поуздане и правовремене резултате који су од есенцијалне важности за започињање терапије и лечење. Сигма метрика (или Six Sigma метрика) је мера која се користи за оцењивање квалитета и перформанси процеса. У суштини, Сигма метрика је алат који помаже у оцени колико је процес „далеко“ од савршенства, односно колико грешака или варијација постоји у том процесу.

Six Sigma методологија користи метрику базирану на стандардним девијацијама (σ) како би оценила перформансе процеса. Сигма ниво представља број стандардних девијација које се налазе између просечне вредности и најближе границе специфичности процеса (нпр. горња или доња граница која дефинише прихватљиве вредности).

Сигма Метрика и нивои Сигме је број стандардних девијација од просечне вредности до границе која означава прихватљиве грешке. Што је већи ниво сигме, то је процес тачнији и са мањим бројем грешака.

Формула за Сигма Метрику

Сигма ниво се обично рачуна према следећој формули

За провођење захтјева о карактеризацији метода помоћу сигма метрике користи се формула: **Сигма метрика = $(\%TEa - \%Bias) / \%CV$** , где је TEa – укупна дозвољена грешка,

Bias – одступање изражено као апсолутна вредност увек позитивна без обзира на смер одступања, CV – коефицијент варијације.

Пример:

Холестерол: TEa = 10 %, Bias = 0%, KV = 2,0% Sigma metrika = $(10\% - 0,0\%) / 2,0\% = 5$

Холестерол: TEa = 10%, Bias = 4,0%, KV = 3,0% Sigma metrika = $(10\% - 4,0\%) / 3,0\% = 2$

Интерпретација сигма нивоа и броја грешака који се очекује у односу на ниво израчунате сигма вредности је следећи:

1 Сигма → 690.000 грешака по милиону (69% грешака)

2 Сигма → 308.537 грешака по милиону

3 Сигма → 66.807 грешака по милиону

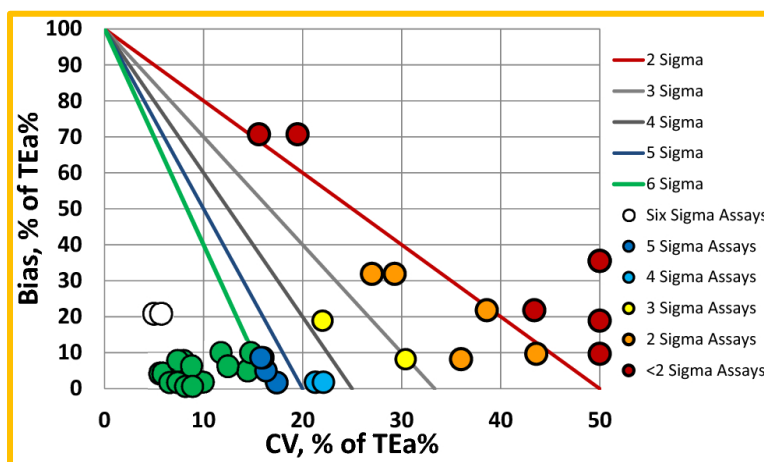
4 Сигма → 6.210 грешака по милиону

5 Сигма → 233 грешке по милиону

6 Сигма → 3,4 грешке по милиону

Лабораторије могу користити сигма метрику за: мерење и побољшање прецизности својих анализа, оптимизацију времена за тестирање и обрада узорака, смањење броја грешака изазваних људским факторима или несавршеним радним процесима или повећање задовољства клијената (пацијената) кроз тачне и правовремене резултате.

Због тога је Six Sigma изузетно важан алат за побољшање квалитета у свим индустријама, а нарочито у оним попут медицинских лабораторија, где грешке могу имати озбиљне последице за здравље пацијената.



(Извор: <https://doi.org/10.1007/s12291-021-00994-x>)

Акредитација обезбеђује поверење у квалитет, непристрасно и независно спровођење испитивања, еталонирања и контролисања и од суштинског је значаја у свим областима рада па тако и у здравственој. Акредитација је званично признање којим национални орган за акредитацију након спроведеног поступка акредитације, потврђује да је организација компетентна за обављање одређених послова у дефинисаном обиму акредитације. Акредитација представља инструмент којим се остварује поверење у компетентност на основу захтева међународних стандарда. Акредитационо тело Србије (АТС) спроводи поступак акредитације у складу са општим захтевима из националних, европских и међународних стандарда, примењујући правила и процедуре које је установило, у складу са захтевима и препорукама EA (*European Cooperation for Accreditation*), IAF (*International Accreditation Forum*) и ILAC (*International Laboratory*

Accreditation cooperation). Акредитационо тело Србије је прописао правила која се морају применити за акредитацију, услове за доделу, одржавање и обнављање акредитације, и услове под којима ће се акредитација одбити, суспендовати, одузети или поново доделити. Критеријуми за стицање и одржавање акредитације су утврђени у: Закону о акредитацији, Српским стандардима и упутствима који садрже опште критеријуме, односно захтеве које треба да испуне подносиоци пријаве за акредитацију, Документима са обавезном применом као што су смернице за примену европских и међународних стандарда и упутстава из области оцењивања усаглашености које су издале EA, IAF и ILAC и Правилима акредитације.

АТС акредитује: Лабораторије за испитивање (којима такође припадају медицинске лабораторије) према ISO IEC 17025 као и лабораторије за еталонирање (исто ISO/IEC 17025). Општи захтеви за компетентност лабораторија за испитивање садржани су у стандарду ISO/IEC 17025. Структура овог стандарда је таква да садржи групу захтева који се односе на менаџмент и групу техничких захтева, а испуњењем ових захтева, лабораторија примењује систем менаџмента квалитета у складу са захтевима стандарда серије ISO 9000. Документу ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, одговара национални стандард SEPS ISO IEC 17025 под насловом Општи захтеви за компетентност лабораторија за испитивање и лабораторија за еталонирање. Овај међународни стандард садржи захтеве које лабораторије за испитивање и еталонирање морају да задовоље, ако желе да покажу да имају систем менаџмента квалитетом, да су технички компетентне, као и да су способне да дају технички валидне резултате. Поред наведеног битни су и захтеви из стандарда ISO 15189 Quality Management in the Medical Laboratory.

Акредитацијом се утврђује компетентност тела за оцењивање усаглашености за обављање послова: 1) испитивања; 2) еталонирања; 3) контролисања; 4) сертификације производа; 5) сертификације система менаџмента; 6) сертификације особа. Акредитацијом се, поред компетентности за обављање послова из става 1. овог члана, утврђује и компетентност за обављање других послова оцењивања усаглашености, у складу са посебним законом.

Поједини изрази употребљени у Закону акредитацији који се користе у струци и пракси имају следеће значење:

1) акредитација је утврђивање од стране националног тела за акредитацију да ли тело за оцењивање усаглашености испуњава захтеве одговарајућих српских, односно међународних и европских стандарда, и када је применљиво, све додатне захтеве дефинисане за поједине области, како би се вршили одређени послови оцењивања усаглашености;

2) сертификат о акредитацији је документ којим се потврђује да је тело за оцењивање усаглашености компетентно за обављање послова оцењивања усаглашености, за одређену област и обим;

3) колегијално оцењивање је поступак оцењивања у којем национална акредитациона тела других држава или међународне и европске организације за акредитацију оцењују национално тело за акредитацију, у складу с правилима међународних и европских организација за акредитацију;

4) компетентност је потврђена способност за обављање послова оцењивања усаглашености;

5) оцењивање усаглашености је свака активност којом се утврђује да ли су испуњени одређени захтеви који се односе на производ, процес, услугу, систем или особу;

6) правила акредитације су правила националног тела за акредитацију којима се дефинише поступак акредитације, захтеви које мора испунити подносилац пријаве за добијање акредитације, као и права и обавезе учесника у поступку добијања и одржавања акредитације;

7) тело за оцењивање усаглашености је правно лице или део правног лица које обавља послове оцењивања усаглашености, укључујући испитивање, еталонирање, сертификацију и контролисање;

Акредитационо тело Србије утврђује компетентност организација за обављање послова оцењивања усаглашености и то: испитивања, контролисања и сертификације, утврђује компетентност организација за обављање послова еталонирања, утврђује и објављује правила акредитације, учествује у раду европских и међународних организација за акредитацију и заступа националне интересе у њима, води регистар акредитованих организација и друге послове из области акредитације.

Фазе у акредитацији су:

1) Заинтересовани корисник за акредитацију информисе се путем веб сајта о поступку акредитације и уколико има недоумица око питања акредитације, остварује иницијални контакт са АТС са циљем јасне идентификације врсте акредитације која се жели и доставља пријаву за акредитацију са траженом документацијом.

2) Након доставе целокупне документације АТС преиспитује поднети захтев, прегледа достављену документацију и тражи евентуалну допуну документације.

3) У овој фази АТС врши програмирање оцењивања, именује тим оцењивача, тим прегледа документацију, остварује предоцењивачку посету и утврђује детаљан план провере организације.

4) Тим оцењивача АТС -а врши проверу и оцену задовољења захтева за организацију, систем квалитета и поступака оцењивања усаглашености. Након спроведеног оцењивања тим обавештава представнике корисника о резултатима оцењивања, укључујући и утврђене неусаглашености, ако их је било, уз утврђене рокове за отклањање недостатака и формира извештај о оцењивању.

5) На основу резултата оцењивања и спроведеног поступка акредитације тим оцењивача даје препоруку помоћнику директора за послове акредитације да се донесе одлука о акредитацији који предлаже директор АТС - а доношење одлуке о акредитацији.

6) У случају додељене акредитације, АТС прати да ли акредитована организација задовољава утврђене критеријуме и после истека рока на које је решење издато и врши поновно оцењивање акредитоване организације.



Симбол акредитационог тела Србије који могу користити лабораторије после добијања акредитације

5. ПРЕАНАЛИТИЧКИ, АНАЛИТИЧКИ И ПОСТАНАЛИТИЧКИ ФАКТОРИ КОЈИ УТИЧУ НА ВРЕДНОСТ ЛАБОРАТОРИЈСКИХ РЕЗУЛТАТА

Крајем XVIII века у Француској се развија **концепт патобиологије**, патолошке физиологије и лечења пацијената на клиникама. Циљ је био да се већи број пацијената лечи на клиникама, а реч клиника подразумевала је истраживање болести поред пацијента. Француски лекар и хемичар *Antoine Francois Fourcroy* је први пут 1791. године, предложио да се у болнице уведе хемијска лабораторија, која не би требало да буде превише удаљена од одељења са креветима пацијената. Тада су рађене анализе различитих екскрета, а посебно урина. Први стандардизовани приказ опреме дао је дао *Alexander Marcet* у виду цртежа који приказује апарат за преглед урина и конкремената у књизи из 1817. године. Циљ медицинске лабораторије је да се на питања постављена речником филозофије (радна дијагноза) одговори речником биохемије, како би се дошло до коначне дијагнозе. Врло брзо су откривени и потврђени бенефити од лабораторијске медицине. Тако је у Немачкој током XIX века, под концептом "патолошка физиологија", започело проучавање засновано искључиво на експериментима. Група младих научника је покушавала да објасни физиолошке појаве заснивајући се само на законима физике и хемије. Све чешће су се отварале лабораторије и углавном су се налазиле у средишту болница, а понекад су називане "храмови болница". Период од 1948. до 1960. назива се **златним добом клиничке хемије** због великог броја открића који се и данас широко користе, као што су вакутајнери, хемијски реагенси спаковани у "китове" или аутоматски анализатори. На тим основама су настале све савремене методе које се користе у данашњим лабораторијама. Слика 1. показује стандардни изглед лабораторије у XIX, XX и XXI веку.

Спровођење лабораторијских испитивања и фактори који утичу на лабораторијске резултате

Стандардизован поступак спровођења лабораторијских испитивања подразумева: пријем и разматрање захтева/понуда, прихватање захтева, понуда и/или потписивање уговора о испитивању, узорковање, пријем и евиденцију узорака, припрему узорка за испитивање, испитивање узорака, анализу резултата и логичку контролу испитивања, израду извештаја о испитивању и верификацију испитивања и издавање извештаја о испитивању.

У поступцима од узимања крви до издавања резултата постоји велики број фактора који могу да утичу на лабораторијски налаз. На сваком од ових нивоа рада могу деловати различити фактори који утичу на лабораторијски налаз. Фактори који утичу на тумачење резултата могу се поделити на: факторе по времену дејства и факторе по својој природи. **Фактори по времену дејства** су: преаналитички (раса, пол, старост, цикличне промене у организму, цикличне промене средине), аналитички (пореком од болесника, пореклом од примењене терапије, настале због грешки у раду) и постаналитички (уписивање лабораторијских резултата и лабораторијски информациони системи). **Фактори по својој природи** могу бити: физиолошки (гладовање, стрес, диурнални ритам и друго) и

методолошки (узимање узорака крви, врста антикоагуланса, епрувете, начин чувања и транспорта узорака). У овом раду ћемо описати факторе који утичу на поузданост резултата.



Фазе у лабораторијском раду и фактори који утичу на вредност биохемијских параметара у крви.

Преаналитичка фаза лабораторијског рада

Избор одговарајућег лабораторијског панела - На основу проблема или превентивне провере, коју желимо да извршимо у стаду заједно са ветеринаром може се одредити комбинацију биохемијских и хематолошких параметара, који ће приказати највредније податке о стању животиња. У предиагностичком поступку у којем поуздано не можемо да утврдимо врсту болести и када желимо да превенирамо болест и испитамо здравствено стање животиње, треба упутити захтев у лабораторију, који се односи на метаболички-дијагностички панел, који одговара одређеном органу/систему. Ови панели и програми, у којима се одређује више параметара истовремено показују функционални статус органа и називају се скрининг програми. Препорука за ветеринаре, који желе да се примарно баве лабораторијском ветеринаром је да формирају свој план испитивања у форми панела. Панеле Лабораторије за патолошку физиологију можете видети на страници лабораторије односно на упуту.

Узимање узорака крви - Вене су погодне за узимање крви због лаког приступа, мада се у случају прецизних гасних анализа користи и узима артеријска крв. Пре пласирања игле неопходно је извршити шишање, бријање и дезинфекцију коже анатомске

регије, где се налази крвни суд из којег ће се узимати узорци крви. Најчешћи фактор који утиче на испитивање резултате је одабир и припрема **вакутајнера**. Вакутајнери могу бити празни или могу да садрже средства за спречавање хемоллизе или издвајање крвног серума. Боја чепа вакутајнера указује на садржај супстанце која се налази у вакутајнеру: светло плава (Na-цитрат), зелена (Na или Li-хепарин), љубичаста (ЕДТА-ethylenediaminetetraacetic acid), сива (флуориди), жута (SPS-sodium polyanetholesulfonate), тамно плава (ЕДТА), мраморно црвена или златна (активатори згрушавања и гел за сепарацију серума), мраморно жута или наранџаста (тромбин), мраморно или светло зелена (гел за сепарацију плазме) и др. Епрувета са вакутајнером са љубичастим чепом у којој се налази ЕДТА као антикоагуланс се користи за бројање уобличених крвних елемената и диференцијалну крвну слику. Када се узима крв у ову епрувету, она треба да буде испуњена више од половине или до ознаке на њој. Мања количина крви са течним антикоагулансом доводи до разређења узорка и добијања невалидних резултата. Након вађења крви епрувета се лагано окрене неколико пута (да би се измешала узета крв и антикоагуланс) и након тога се шаље у лабораторију. Уколико, не постоји могућност да се одмах пошаље узорак крви у лабораторију треба да се чува на температури од +2 до +4°C, максимално 24 часа. За испитивања коагулације крви користи се епрувета с плавим чепом у којој се као антикоагуланс налази 3,8 % Na-цитрат. Пуну епрувету треба лагано окренути десетак пута, водећи рачуна при томе да не дође до згрушавања. Након тога, потребно је пуну крв у року од пола сата, центрифугирати на 3000 обртаја 15 минута и затим пластичним наставцима уз помоћ аутоматске пипете одвојити плазму. Плазма се чува на температури од - 20°C до - 70°C. Важно је напоменути је у току узимања узорка крви потребно пажљиво извршити венепункцију да не би дошло до активације фактора коагулације и агрегације тромбоцита.

Резултати нашег испитивања указују да је избор вакутајнера веома значајан, а да варирања зависе и од врсте анализата. У испитивање је укључено 20 здравих крава Холштајн-фризијске расе, које су се налазиле у другом месецу лактације. Крв је узимана венепункцијом из в.дооцигеа. Коришћено је пет врста вакутајнера и то: за одвајање серума, са хепарином, са ЕДТА, цитратом и флуоридом. Од сваке краве узорци су узети у свих пет врста вакутајнера. Одређена је концентрација: албумина, укупних протеина, глукозе, Са, Р, БХБ, НЕФА, уреа, холестерол, триглицериди, АЛТ, АСТ, АП, ГГТ и билирубина. Резултати анализа у узорцима који су садржали антикоагулансе статистички су поређени са анализама рађеним у серуму, које су сматране контролом. Израчунато је и процентуално одступање просечних вредности концентрације метаболита добијених из узорака са различитим антикоагулансима у односу на вредност из серума. Резултати испитивања показују да антикоагуланси имају утицаја на вредности биохемијских параметара у крви крава. У узорцима где је коришћен хепарин као антикоагуланс нађена је виша вредност албумина (одступање 4,1%) и укупних протеина (1,4%), а нижа вредност алкалне фосфатазе у односу на серум (-33%). У узорцима у којима је коришћен ЕДТА нађена је значајно нижа вредност укупних протеина (-5,8%), Са (-49,6%), Р (-17,7%), АП (-32%) и виша вредност АСТ (10,6%) у односу на серум. У узорцима где су коришћени цитрат и флуорид као антикоагуланси нижа вредност укупних протеина, албумина, глукозе (само цитрат), Са, Р, БХБ, НЕФА, урее (само цитрат), холестерола, АП и ГГТ (само флуорид) и нижа вредност билирубина при употреби цитрата односно виша при употреби флуорида у односу на серум. Одступања биохемијских параметара мерених из узорака крви који су били у цитрату односно флуориду износили су: укупних протеина (-

5,3%, -5,2%), албумина (-7%, -5,7%), глукозе (само цитрат -6,2%), Са (-55%, -82%), Р (-29%, -24%), БХБ (-53%, -80%), НЕФА (-62,1%, -79,4%), урее (само цитрат, -25,5%), холестерола (-28,6%, -28,4%), АП (-38%, -32%) и ГГТ (само флуорид -17,8%) и виша вредност билирубина (-22,8%, 64,4%). За рутинску клиничку биохемијску анализу крви крава осим серума најпоузданије је користити узорке у којима је коришћен хепарин као антикоагуланс, јер употреба других антикоагуланаса даје велика одступања у вредности биохемијских параметара у односу на серум.

За испитивања се може користити цела (пуна) крв, плазма или серум. Углавном се за већину хематолошких испитивања користи цела (пуна) крв са антикоагулансом. Употреба серума се користи у многим лабораторијама за биохемијска испитивања, од када је искључено додавање антикоагуланса, који би могао утицати на аналитичке методе и довести до промене концентрације параметара, који се испитују. Код хетерогених серума нема интерференције фибриногена, те се серум употребљава и за електрофорезу и анализу одређеног протеина. У ускладиштеним узорцима серума формирање фибринских нити је много слабије него при употреби плазме, те је много мањи ризик од појаве зачепљења аутоматских биохемијских анализатора. Са друге стране, употреба плазме је заступљенија у неким лабораторијама од употребе серума, прво јер штеди време (узорци плазме могу бити центрифуговани одмах након узорковања, нема потребе чекати да се коагулација заврши), као друго 15- 20 % више плазме него серума може бити узето из исте запремине крви, а као треће у плазми нема коагулацијом изазваних промена, нити интерференција.

Хепарин се генерално препоручује као најчешћи антикоагуланс за узорке плазме. Хепаринизована плазма и серум дају сличне резултате за већину параметара с том разликом да се при додатку хепарина јавља смањење јонизованог калцијума, калијума, Ацх и повећање албумина. ЕДТА је антикоагуланс који своје дејство испољава понашајући се као хелат, који ствара комплексе са калцијумом, кључним фактором при коагулацији и употребљава се код хематолошких испитивања, јер омогућава изузетан квалитет бојења крвних ћелија. Може се користити у облику динатријум, дикалијум и трикалијум соли, а последња два су углавном избор због веће растворљивости. ЕДТА изазива знатне промене у укупном и јонизујућем калцијуму и већини електролита. Опадање укупног и јонизујућег калцијума је повезано са хелатним својствима антикоагуланса, а повећање калијума се јавља услед чешће употребе антикоагуланса у облику трикалијум соли, због веће солубилности. ЕДТА делује и на неке ензиме те индукује знатно опадање само АП и ацетилхолинестеразе. Уз неке изузетке као што су електролити, АП, албумин, жучне киселине и фруктозамини, остали ензими и метаболити у узорцима са ЕДТА не показују значајне разлике у поређењу са узорцима чистог серума.

Раствор натријум-цитрата у концентрацији 3.2-3.8 g/dL у разређењу 1:9 крви, се користи за анализу фактора, који учествују у хемостази, јер је његово дејство реверзибилно и лако се прекида додатком јонизованог калцијума. Натријум цитрат изазива повећање натријума и опадање готово свих других параметара у поређењу са чистим серумом. Опадање параметара се креће углавном у оквиру 10- 15 %, а повезано је са разређењем (1:9), када је крв помешана са антикоагулансом у течном облику. Натријум флуорид је слаб антикоагуланс, који се користи као антигликолитски фактор (инхибира дејство неколико гликолитских ензима, стварајући комплекс са магнезијум јон кофактором.), да би сачувао глукозу у крви и углавном се комбинује са јачим антикоагулансима као што је калијум оксалат.

Уколико се узорковање врши са више епрувета потребно је применити одређени редослед. Узорковање се почиње епруветом која садржи цитрате, након чега следи епрувета за биохемију, затим хепаринска епрувета, па ЕДТА и на крају флуорид/оксалатна епрувета.

Стаклене епрувете су због безбедности замењене пластичним. Већа валидност тестова може се постићи употребом епрувете у којима се налазе адитиви, као што је сурфактант, обложене епрувете, и гел слојеви који омогућавају раздвајање узорака. Хиперпротеинемичан узорак крви ће довести до промена на самом гелу, те слабљења баријере и могуће слабијег раздвајања уобличених елемената крви од серума/плазме. Веома је важно поштовати рок употребе епрувете. Неадекватан однос крви и антикоагуланса у епрувети може имати критичне ефекте на лабораторијске резултате. Уколико се узме мало крви осмотски ефекат може изазвати скупљање ћелије. Значајне промене у величини ћелије су уочене при високим концентрацијама КЗЕДТА, када епрувета није испуњена до краја. Неиспуњене цитратне епрувете могу имати значајне ефекте на параметере који одређују хемостазу: протромбинско време и активирано парцијално тромбопластинско време. Време коагулације је продужено при смањеном разређења од 1:9 до 1:7 или 1:5.

Игле коришћене заједно са епруветама, катетерима, шприцевима илептир системом су прављене од различитог материјала, укључујући алуминијум, титанијум, нерђајући челик, хром, гвожђе, никл и легуре. Игле имају један дужи, заострени крај, који служи за пробадање коже и крвог суда, прекривен заштитним омотачем и краћи на који се наставља гумени стопер епрувете за сакупљање крви. Венепункција се може вршити иглама величине 19G до 25G, а најчешће се при рутинској венепункцији, код одраслих животиња користе оне величине 21G. Један од проблема приликом употребе игала је могућност појаве хемоллизе, када долази до ослобађања хемоглобина и других интрацелуларних метаболита као што су калијум, лактат дехидрогеназа, аспартат трансаминаза, аланин трансаминаза, неоргански фосфор и магнезијум, у серум или плазму. У том случају долази до лажног повећања ових метаболита у узорцима, док се албумин, алкална фосфатаза и натријум смањују услед разређења узорка. Слободан хемоглобин у серуму или плазми може да утиче на неке клиничке тестове и доведе до појаве нетачних резултата, што захтева поновно прављење крвних размаза. Нађено је да игле малог промера (25G и мање) доводе до повећане концентрације калијума и других метаболита у серуму, услед појаве хемоллизе. Ови научници су препоручили да се игле малог промера користе за новорођенчад или код оних пацијената код којих је приступ венском систему отежан. **Спор проток кроз игле малог промера** је повезан са повећаним згрушавањем, појавом оклузије и варијацијом резултата теста. Игле великог промера, веће од 19G, могу изазвати хемолизу која је повезана сатурбулентним кретањем крви. Веома је битно да величина игле одговара величини вене, а игле 21G су се показале као најбоље. Лубрикант који облаже иглу смањује пенетрирајућу силу, силу којом игла пробија ткиво, тј. ону која је потребна да се настави продор кроз ткиво и бол повезан са венепункцијом. Најчешће коришћена мазива су силикони и то нарочито полидиметилсилоксан, Силиконска мазива изазивају хидрофобност игле и тако омогућавају минимално крварење и минималан контакт са металом. Силиконски лубриканти имају способност да одвоје лек од протеин носача и да ступе у хемијске реакције или да се везују за антиген антитело комплекс у имуно тестовима. Компоненте игала изграђене од метала (никл, маган, хром гвожђе) могу довести до контаминације крвних узорака и могу ступити у хемијске

реакције, или лажно повисити ниво метала у крви. Метали и легуре које се користе у иглама морају бити тестирани како би се проценили било који ефекти које могу изазвати у крви, плазми или серуму. **Лептир игле** имају предност када се врши венепункција геријатријских пацијената или код малих и крхких вена, јер је њихова величина 21G или 23G. Буттерфлу сет се састоји из игле израђене од нерђајућег челика са заштитним омотачем и пластичних крила које су повезане са пластичном цеви на једном крају и Лауер адаптером на супротној страни који служи за убацивање цеви за сакупљање крви у крвни суд. Проблем који може да настане приликом употребе лептир игала је повећан ризик од појаве хемолизе. Није пронађена клинички значајна разлика између резултата теста узорака добијених помоћу лептир игле и оних добијених употребом стандардне игле, што указује да лептир игла може бити добра замена за равну иглу приликом узорковања. Шприцеви за ињекције се користе приликом узорковања крви из малих и фрагилних вена, које би услед употребе епрувете за узорковање крви због већег притиска при увлачењу крви у епрувету колабирале. Ово је углавном случај код старијих пацијената и новорођенчади. **Шприцеви** се такође користе и за сакупљање артеријске крви за извођење гасних анализа. Израђени су углавном од полипропилена или полиетилена уз додатак адитива и модификатора као што су антиоксиданси, топлотни стабилизатори, ултравиолетни стабилизатори, лубриканти. Прекомерно усисавање и јако повлачење клипа током узорковања крви може довести до распадања црвених крвних ћелија и хемолизе. Неколико студија је показало да је појава хемолизе повећана када се сакупљање крви врши помоћу игле и шприца, него помоћу одвојених епрувета. У једној студији 19% узорака добијених шприцем је било хемолизовано, у поређењу са узорцима добијеним помоћу одвојених епрувета, где је само 3% било хемолизовано. Како би се смањила појава хемолизе у узорцима, клип шприца треба повлачити нежно и тако редукovati стрес на мембрани еритроцита. Артеријска крв, за гасне анализе се прикупља у стакленим шприцевима који су непропусни за атмосферске гасове. Пластични шприцеви су генерално заменили стаклене како због цене, тако и због практичности (једнократна употреба). Главна мана пластичних шприцева при узорковању крви за гасне анализе је што су зидови пропустљиви за кисеоник и у мањој мери угљен диоксид. Бројне студије су показале да постоје знатне разлике у парцијалном притиску кисеоника у узорцима крви добијеним стакленим шприцем, у поређењу са оним који су добијени пластичним шприцем. **CLSI** **предлаже** да се узорци добијени пластичним шприцевима чувају на собној температуре и анализирају кроз 30 минута, док стаклени шприцеви треба да се користе у случајевима када ће анализе бити вршене након 30 минута. Преношење крви из шприца у сабирну епрувету не треба никако вршити тако што ћемо пробити гумени чеп епрувете јер то може довести до хемолизе. Када се шприц користи за преношење крви у епрувету, треба пренети тачно одређену запремину крви због тачно дефинисаног односа крв антикоагуланс, јер ће у супротном резултати бити нетачни. Катетери се користе за администрацију лекова и течности и за повлачење крви и других телесних течности. Приликом протицања кроз катетер крв је изложена деловању силе која доводи до промене облика крвних ћелија, до деструкције ћелија и последичног изласка интраћелијских компонената у серум. Бензалконијум хепарин, који облаже катетер и служи да спречи појаву тромба и појаву инфекција, се може ослободити у крв и ометати рад јон осетљивих електрода када долази до лажног повећања концентрације натријума и калијума. Под овим околностима узорковање крви за испитивање електролита треба вршити директном венепункцијом.



Вакутајнери за различите врсте анализа се лако распознају према боји чепа.

Обележавање узорака - Правилно обележавање узорака сакупљене крви изгледа као лака процедура, али врло често је узрок преаналитичких грешака. Правилна идентификација узорака је неопходна, а бар код систем у лабораторији смањује појаву грешака и штеди време.

Транспорт узорака крви - Транспорт често представља велики проблем нарочито код фармских животиња због велике удаљености фарме и лабораторије. Претерана турбуленција током вожње може довести до хемоллизе узорака а ризик се може смањити пуњењем епрувета за узорковање, до нивоа који је наведен од стране произвођача. Слање нецентрифугованог серума и узорака плазме треба избегавати а неадекватно затворене епрувете доводе до расипања узорака током транспорта, што онемогућава анализу. Неки метаболити захтевају кратко време транспорта. На пример амонијум у плазми остаје стабилан 15 мин при температуре од 22°C или 2х при температуре од 2-4 степена. Ако се транспортује артеријска крв за гасне анализе у важне преаналитичке факторе спадају: време када ће се вршити анализа, тип шприца и температуре при транспорту. Складиштење артеријских узорака за гасне анализе на леду, у пластичним епруветама, током 30 минута је неадекватно због повећања pO_2 . Узорци крви за гасне анализе, сакупљени у пластичним шприцевима треба анализирати кроз 10 минута од узорковања. Идеалним за гасне анализе се сматра транспорт узорака у стакленим шприцевима, у леду. Крв или серум треба након узимања што пре однети у лабораторију или стабилизovati стављањем серума на температуру фрижидера (+4°C) или замрзавањем (-20°C). Тако се за одређивање инсулина из серума, узорак може чувати 4-6 дана на собној или температури фрижидера или 6 месеци након замрзавања. Билирубин се мора одмах одредити, а крв се не сме излагати сунчевом зрачењу. Да би узорак за испитивање глукозе био валидан, неопходно је да се крв депротеинизира. Дакле, у зависности од начина узимања крви, транспорта и чувања узорка зависи и квалитет узорака у дијагностичком поступку. Крвни серум је знатно стабилнији за чување у односу на целу крв. У условима узимања узорака на фарми и увек када је место узимања узорака далеко од лабораторије, неопходно је да се одмах издвоји серум од осталих делова крви. Уколико не поседујемо

вакутајнер, серум се одваја центрифугирањем у центрифуги у трајању од 10 минута и на 3000 обртаја / мин. Транспорт узорака крви на стабилној температури је од великог значаја узимајући у обзир удаљеност фарме од лабораторије.

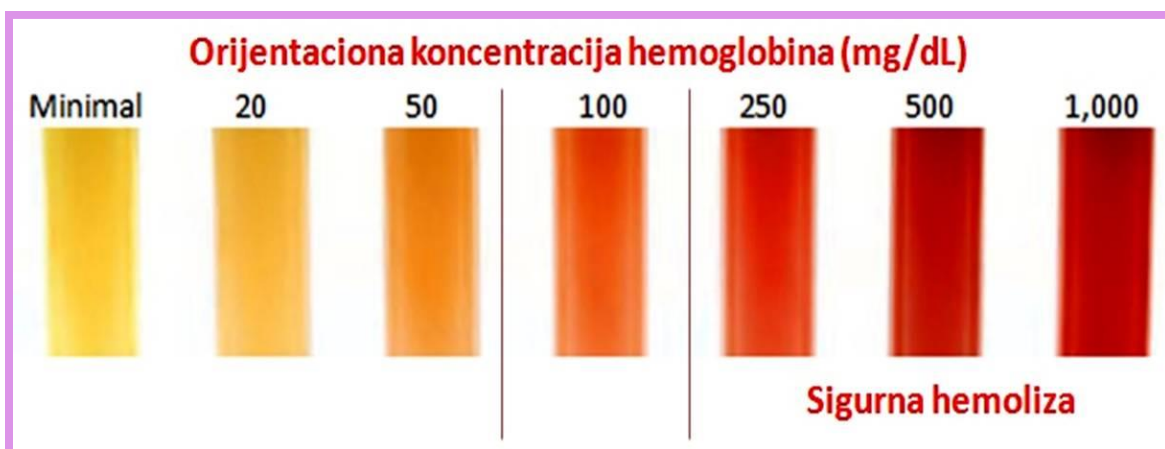
Центрифугирање - Релативно велика брзина центрифугирања (нпр. 2000g за 10 минута) је основна процедура за раздвајање плазме и серума од ћелијских компонената крви. Серум/ плазму треба пребацити у другу епрувету кроз сат времена од сакупљања да не би дошло до еритроцитне гликолизе и изласка калијума и фосфора из еритроцита и неколико ензима из тромбоцита. Одвојени серум/ плазма су стабилни 24-72 часа за већину метаболита на температури од 4°C. За анализу хематокрита код крава узорци се могу складиштити до 12 часова на 30°C. Узорци могу бити складиштени дуже од 24 часа на собној температури без икаквих промена у концентрацији хемоглобин, броју црвених и белих крвних ћелија. Цитолошки узорци су некад центрифугирани на ниским брзинама да би се ћелије концентровале уз очување ћелијске морфологије.

Завршна процена квалитета примарног узорка пре анализе - Пажљива процена квалитета узорака у лабораторијама је битна јерсе већи број узорака транспортује у мање или више оптималним условима. Стандардни мониторинг подразумева процену боје плазме или серума. Хемолиза се визуелно детектује црвеном обојеношћу плазме или серума. То је најчешћа преаналитичка грешка са великим утицајем на квалитет резултата. Хемолиза је разградња еритроцита, која је изазвана изласком хемоглобина и других компонената еритроцита у околни простор. Због тога долази до лажног повећања вредности неких параметара, који су присутни у еритроцитима и серуму. Поред хемоллизе јавља се и липемија, код које се јавља бела до млечне опалесценције серума или плазме, зависно од количине и типа липида који се налазе у узорку. Јавља се корелација са многим биохемијским параметрима, укључујући и хемоглобин. Утицај липида се може редукovati ултрацентрифугирањем и хлађењем. Повећање концентрације билирубина или иктерична плазма или серум могу ометати фотометријска читања у овим реакцијама и у хемији уопште. Присуство малих или великих угрушака указује на поремећај коагулације што је битан разлог за одбацивање узорака. Микро угрушци се лако могу превидети уколико узорци нису детаљно прегледани пре обраде.

Поступање у лабораторији у преаналитичкој фази и хемолиза узорка - У току узимања крви и поступању са њом треба избећи одређене грешке. Један од најчешћих проблема, који се јавља је брза коагулација крви, те треба користити антикоагулансе. Други проблем је хемолиза узорка, која може настати као последица конгестије, брзе аспирације крви, предугог стајања крви на собној температури, излагањем узорка високим температурама и слично. У току хемоллизе расте калиемија и концентрација ензима, који се ослобађају из ћелија, што може довести до неправилног тумачења резултата. Хемолиза може бити велики проблем приликом одређивања концентрације билирубина. Врло често се јавља хиперлипемична или хиперпротеинемична плазма, због чега треба извршити депротеинизацију серума (филтрирање или хемијско разлагање) односно екстракцију липида. Овај поступак је неопходан, јер повишене вредности липида (изнад 4,5 mmol/L) или протеина (изнад 70g/L) стварају пену, а у фотометријском поступку интерферирају са другим материјама у крви и дају непрецизне а често и погрешне резултате. Након коагулације, која се код животиња одвија током 5-10 минута (код говеда пола сата), епрувету је потребно центрифугирати на 3000-4000 обртаја/минути (говеда 5000 обртаја/минути) током 5-10 минута. Уколико се користе епрувете с гелом, гел ће одвојити корпускуларне елементе од серума те тако одвојен серум не треба посебно одвајати.

Уколико нема гела, потребно је одвојити серум у другу епрувету. Ако одређујемо глукозу у серуму или плазми, а узорак није могуће доставити лабораторији и урадити анализе за 2-3 часа, долази до смањења вредности глукозе. Ниво глукозе изван тела опада због гликолизе за 5-7% по сату, те се мења зависно од концентрацији глукозе, температуре, броја леукоцита и других фактора. Постоје мале разлике између резултата добијених вршењем анализа из серума или плазме, осим за неке параметре. Лактат дехидрогеназа (ЛДХ), калијум и фосфор се налазе више у серуму него у плазми, због ослобађања тих параметара из ћелија за време коагулације. Протеина и глобулина има више у плазми него у серуму, јер плазма садржи и фибриноген. Важно је напоменути, да је већина биохемијских параметара стабилна 48 часа на температури фрижидера. За дуже чување потребно је серум замрзнути на -20°C .

Најважнији преаналитички извор грешке у самом узорку који прави интерференције са бројним параметрима је хемолиза. **Хемолиза узорка** узете крви представља један од најзначајнијих преаналитичких фактора које је неопходно узети у обзир приликом обраде узорка и тумачења добијеног резултата. Она може настати као последица различитих фактора који се односе на животињу (инфекције, тровања, поремећаји метаболизма), технику флеботомije, транспорт (температура, дужина транспорта), центрифугирање у лабораторији и чување. Приликом хемолизе ослобађа се хемоглобин, који значајно интерферира са другим биохемијским показатељима, тако да ствара системску грешку приликом мерења, што резултује девијацију измерених података у односу на праве вредности. Хемолиза може интерферирати са вредностима лабораторијских параметара на неки од следећа четири механизма: 1) адитивни: отпуштене интрацелуларне супстанце, нпр. К, ЛД, АСТ су мерени са аналитом у серуму или плазми; 2) спектрални: на таласним дужинама од 415, 540 и 570 nm хемоглобин показује јаке пикове апсорбанце; АЛП, ГГТ могу бити погођени због сличног спектра читавања; 3) хемијски- где може доћи до унакрсне реакције слободног хемоглобина или других ћелијских састојака са интересантним аналитом, нпр. ЦК и 4) дилуција: интрацелуларна контаминација течности у серуму или плазми, видљива код тешке хемолизе, нпр. са Na, Cl.



Визуелна процена нивоа хемолизе у узорку плазме или серума са оријентационим вредностима слободног хемоглобина (у обзир се морају узети и начин исхране, евентуално неки лекови или услови за присуство других материја које боје серум или плазму).

Аналитичка фаза и контрола квалитета у лабораторији

Контрола квалитета обухвата организацијску структуру, систем одговорности, поступке и процесе, средства (опрема, реагенси, контролни материјали и друго). Према досадашњој пракси контрола квалитета првенствено прати истинитост резултата мерења на контролним материјалима и прецизност у поновљеним мерењима, што омогућава контролу системске и случајне грешке у свакој серији мерења. Она се одвија на техничком нивоу мерног поступка и назива се аналитичка контрола. Контрола квалитета у лабораторији може бити спољашња и унутрашња.

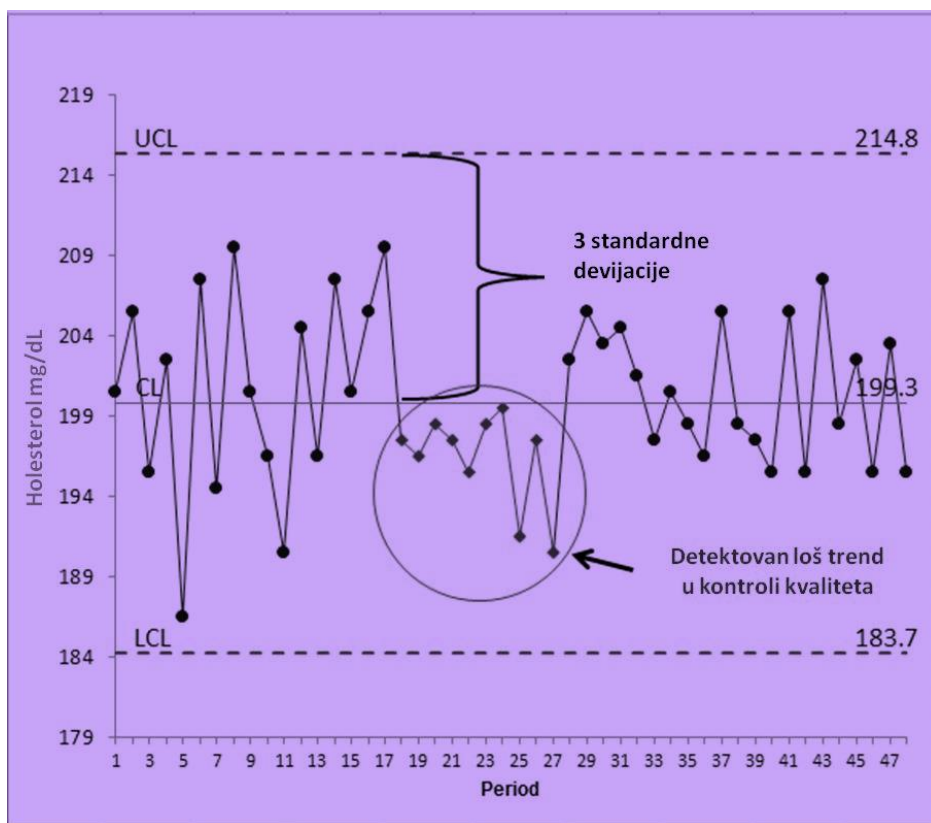
Унутрашња контрола квалитета служи за детекцију или меру одступања од стабилног извођења у индивидуалној клиничкој лабораторији. Спроводи се континуирано, од стране саме лабораторије. Контролни узорци се одређују заједно са узорцима пацијената. У контроли учествују сви непосредни извршиоци. Контрола квалитета се може изводити на неколико начина, и то: 1) контрола “данас-данас” у току које се један те исти узорак анализира истом методом двапут у истом дану. Препоручује се да се спроведе у различитим серијама у току обраде узорака; 2) контрола “дан за даном” која се проводи тако да се узорак од јуче анализира истом методом у серији са данашњим узорцима; 3) контрола помоћу комерцијалних контролних серума од различитих добављача, а садрже познате концентрације материје која се испитује; 4) контрола помоћу “пула серума” за коју се у лабораторији скупи одређени број преосталих серума од завршених анализа, приближно уједначених резултата у различитим подручјима вриједности (пул за ниске, пул за референтне и пул за високе вредности), хомогенизује, одреди распон вредности и расподели у низ бочица или епрувета, замрзне и свакодневно обради као непознати узорак. Добијена одступања не би требала да прелазе ниво аналитичке грешке односно интраиндивидуалне биолошке варијабилности.

Спољашња процена квалитета представља процену квалитета рада медицинских лабораторија од стране екстерних организација/агенција. Врши се одређивање перформанси лабораторијског испитивања путем међулабораторијских, у којој EQA програм периодично шаље један или више контролних узорака члановима групе медицинских лабораторија, а EQA програм затим упоређује резултате за сваку лабораторију са резултатима других лабораторија у групи и/или са додељеним вредностима. Термин EQA одговара термину испитивање оспособљености (PT test). У литературе се котисте изрази EQA/PT програм и EQA/PT шема. За те сврхе се користи контролни материјал. Контролни материјал представљају узорци или раствори, који се одређују у циљу контроле квалитета, а код које параметри имају стабилну, тачно одређену концентрацију. Супстанца или основа од које је контролни материјал припремљен се назива матрикс. У идеалном случају контролни материјал треба да садржи исти “матрикс” као и узорак који се користи за одређивање. Контролни материјали су комерцијално доступни у лиофилизованом или течном стању, у бочицама запремине 5 mL или 10 mL. Уколико су у лиофилизованом стању, треба да се реконституишу и стабилни су 48 сати после реконституције. После реконституције се могу разлити у мање порције од 0,5 до 1 mL и чувати на -20°C до употребе. Поступак реконституције треба да буде строго стандардизован, а то подразумева: коришћење волуметријских пипета класе А, дејонизоване воде типа I, као и строго придржавање времена мешања контролног материјала при његовој реконституцији. У међулабораторијској размени одређује се колико вредност коју сте добили одступа у односу на идеалну вредност из контролног

узорка, што се представља помоћу посебних контролних карата. На Y оси се налази средња вредност параметра у контролном серуму и одступање у виду стандардних девијација (SD), док се на X оси налази датум или редни број мерења по реду. Уколико се ваш резултат налази у распону од 1 SD онда су ваши резултати задовољавајући.

Циљ контроле квалитета је да се утврди и унапређује прецизност и тачност методе и опреме на којој се мери за сваки биохемијски параметар који се одређује.

Њихово одређивање се врши приликом набавке новог апарата, увођења нове методе на постојећем апарату или приликом промене реагенаса и слично. Све наведено су вредни подаци који указују на то да колико се можемо поуздати у резултате које добијемо у нашој лабораторији. Обзиром да је аутоматизација лабораторија висока, често се некритички поуздамо искључиво у прескрипције произвођача, а касније имамо замерке на коришћени мерод или апарат јер видимо да неке вредности нису логичне. То се дешава управо зато што ослањајући се слепо на прескрипције произвођача нисмо свесни колика је аналитичка грешка, па је потребно стално радити на њиховом откривању и уклањању у циљу повећања прецизности, тачности и поузданости у раду.

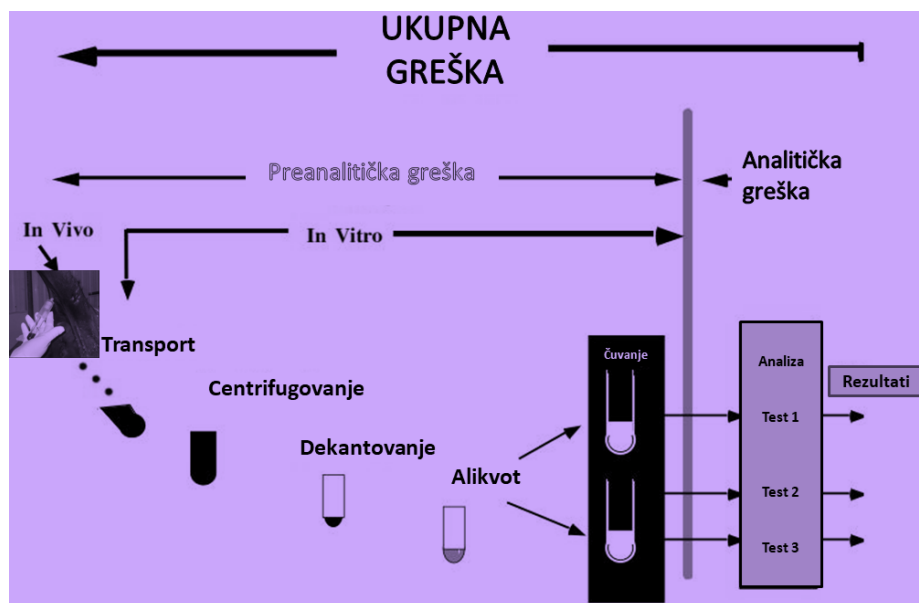


Изглед контролне карте (*Levey-Jennings* карта) за свакодневно праћење контроле квалитета и лабораторијске грешке. На слици се види очекивана средња вредност, могући распон вредности и детектовани период у коме су мерене вредности одступале од очекивани средње вредности. То је период у ком се морају предузети одерђене мере како би се повећао квалитет лабораторијског рада.

Постаналитичка фаза и пост-пост аналитичка фаза

Лабораторијски рад и његови резултати предочавају *се лабораторијским резултатом / налазом* који тачно, јасно и недвосмислено приказује резултате мерења, као и све друге битне подаке о животињи, власнику и пошиљаоцу. Састављању налаза треба посветити велику пажњу. То се у првом реду односи на приказивање резултата, које мора бити јасно и лако за тумачење. Заглавље налаза за сваку лабораторију мора бити стандардизовано. На налазу се могу приказати резултати једнога или више мерних поступака у једној или више врста узорака, али увек само за једну животињу. Према IFCC/IUPAC препорукама, подаци у лабораторијском извештају могу се сврстати у четири дела: 1. део садржи административне податке, 2. део садржи идентификацијске податке о животињи, 3. део садржи вредности мерених величина и референтне вредности са којима се пореди као и аналитичку грешку лабораторије и 4. део садржи коментаре и напомене. Само добро организована лабораторијска документација ће омогућити да управљамо свим процесима у лабораторији, да избегнемо стручну грешку и да из велике количине информација које лабораторија нуди створимо ново знање.

Приликом набавке неког апарата или увођења нове лабораторијске методе ветеринари се углавном распитују да ли су уписане референтне вредности у сам апарат на ком се врше анализе. Овакво питање је потпуно неутемељено, јер уписана референтна вредност нема никакав утицај на саму хемијску реакцију нити резултат. Уписана референтна вредност служу само да бисмо се лакше оријентисали приликом поређења добијеног резултата са неким вредностима које сматрамо нормалним. Дакле, *референтна вредност* је нешто што сами утврђујемо на референтној популацији или уписујемо већ постојеће референтне вредности које смо раније валидирали. Слепо прихватање референтних вредности произвођача може довести до одређене дискрапанце у клиничком и лабораторијском налазу. Због тога одређивању референтних вредности треба посветити посебну пажњу. Референтна вредност подразумева опсег вредности, која се налази код 95% здравих особа, а добијена је у групи одабраних јединки, које чине репрезентативни узорак. Референтне вредности се представљају као дистрибуција фреквенције измерених вредности, а најчешћи препоручени облик је 95%-ни интервал, односно вредности између 2,5 и 97,5 перцентила (%), тако да управо ови перцентили представљају граничне вредности. Статистички модели за израчунавање референтног интервала су непараметарска метода, параметарска метода, метода грубе процене и метода поновљеног узорковања. Израда референтних вредности подразумева укључивање најмање 120 референтних јединки код којих треба одредити вредности лабораторијских параметара од интереса. Како је одређивање референтних вредности дуготрајан и скуп процес, ветеринари у својим ин-хоусе лабораторијама често преузимају референтне вредности из литературе или других лабораторија. Употреба тих референтних интервала је дозвољена уколико је извршена правилна процена и валидација. Провера интервала може се извршити на три начина: 1. субјективном проценом; 2. верификацијом с мањим бројем референтних јединки (на 20 референтних јединки које задовољавају све постављене критеријуме за референтну популацију) и 3. верификацијом на већем броју референтних јединки (нпр. на 60 референтних јединки).



Утицај поступака и фазе рада на укупну грешку приликом мерења концентрације метаболита

6. ДЕФИНИЦИЈА И ЗНАЧАЈ РЕФЕРЕНТНИХ ВРЕДНОСТИ ЛАБОРАТОРИЈСКИХ ПАРАМЕТАРА И ИНТЕРПРЕТАЦИЈА НАЛАЗА

Термин „нормалне вредности” је коришћен за описивање вредности крвних параметара код здравих јединки све до 70-их година XX века. Међутим, још тада је било познато да се код многих болести хематолошки параметри могу да нађу у оквиру нормалних вредности, а могуће је да код здравих јединки из различитих разлога вредности параметара могу бити изван нормалних. Због тога је тада уведен назив „референтна вредност”, односно „референтни интервал”, који се може превести као „одговарајућа вредност”. Референтна вредност подразумева опсег вредности, која се налази код 95% здравих особа, а добијена је у групи одабраних јединки, које чине репрезентативни узорак. Ово не значи да сваки налаз који је изван референтних вредности значи патолошку вредност, јер на резултате могу да утичу различити преаналитички и аналитички фактори. Најзначајнији преаналитички фактори су: неправилно узет узорак или неадекватан однос целе крви и антикоагуланса, стајање узорка – утицај температуре или светла, особине самог узорка – липемија, хемолиза и жута обојеност (иктерус). Од аналитичких фактора значајни су параметри контроле квалитета, познавање биолошке и аналитичке варијабилности.

Референтни интервал обухвата вредности између доње и горње референтне границе, укључујући и вредности самих граница. Референтна вредност је вредност добијена мерењем концентрације неког анализата у биолошком материјалу (крв, серум, плазма, ликвор, итд.) пореклом од референтне јединке, која одговара референтном узорку. Референтна јединка је јединка дефинисаног статуса здравља изабрана за одређивање референтне вредности. Референтну популацију чини скуп свих референтних јединки, које задовољавају дефинисане здравствене и друге критеријуме које смо поставили. Референтни узорак се састоји од одговарајућег броја референтних јединки, које представљају референтну популацију. Референтна дистрибуција је расподела вредности из којих одређујемо референтне границе.

Однос између појединих термина значајних за разматрање референтних вредности је следећи: *референтне индивидуе* чине *референтну популацију* из које се одређује *референтна група* од које се узима крв од које се одређује *референтна вредност* која је карактерисана *референтном дистрибуцијом*, *референтним лимитом* и *референтним интервалом*.

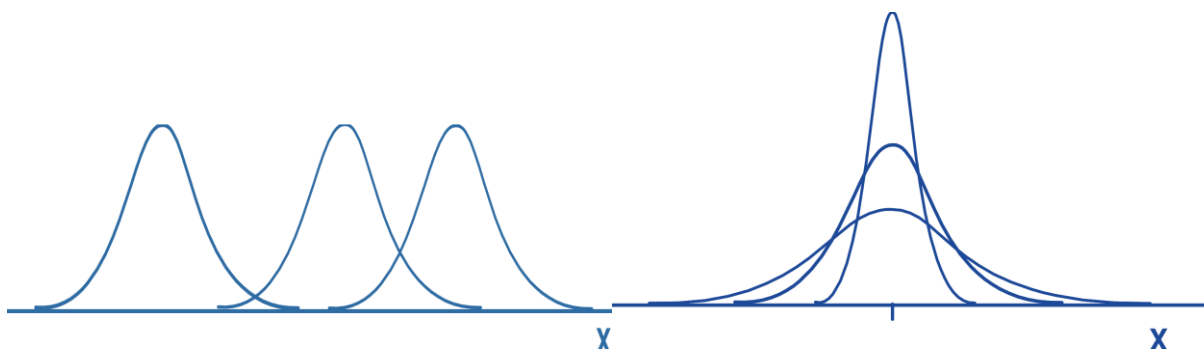
Добијене вредности од животиња се пореде са референтним вредностима, дистрибуцијом, лимитом или интервалом. Одређивање референтног интервала у лабораторији је од велике важности, узимајући у обзир да је циљ одређивања референтног интервала, који одговара здравим јединкама, односно који омогућава квалитетну детерминацију здравих и оболелих јединки.

Израда референтног интервала и приказивање резултата подразумева следеће процедуре: претраживање литературе у циљу откривања интерференција и извора биолошке варијабилности; дефинисање и састављање упитника који садржи критеријуме према којима ће јединке бити укључене у скуп референтних јединки и критеријуме поделе јединки у засебне референтне интервале, нпр. према старости, производној категорији, полу, периоду лактације; разврставање референтних јединки према критеријумима;

искључивање јединки који не задовољавају услове; одређивање броја референтних јединки које ће бити укључене у истраживање; узорковање и поступање с узорцима у складу са рутинским радом лабораторије (преаналитичка и аналитичка фаза рада); анализа статистичке расподеле/дистрибуције фреквенције референтних вредности; идентификовање могућих погрешки и екстремних вредности пре и после одређивања референтног интервала (преаналитичка и аналитичка фаза рада); одабир метода за обрачунавање референтног интервала и његових граница уз одређивање интервала поверења; ако је потребно, раздвајање референтног интервала у подгрупе и документовање свих спроведених поступака. Процедуре су прецизно дефинисане међународним стандардима, које су у IFCC-CLSI C28-A3 водичу (*Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory: approved guideline*, 3. издање, 2008). О принципима рада у Лабораторији за патолошку физиологију, која је испитивала референтне интервале приказане у овој књизи погледајте у наредном у поглављу 2. Варијабилност референтних вредности зависи од варијабилности која постоји у лабораторији која вредности израђује.

Референтне вредности се представљају као дистрибуција фреквенције измерених вредности, а најчешћи препоручени облик је 95%-ни интервал, односно вредности између 2,5 и 97,5 перцентила (%), тако да управо ови перцентили представљају граничне вредности. У неким је случајевима важна само горња вредност односно 97,5% перцентил. Поменута дистрибуција фреквенције се приказује хистограмом, где се на ординату наноси учесталост, а на апсцису измерене вредности. Прегледом визуелног изгледа хистограма, односно расподеле података могу се препознати екстремне вредности, које могу бити извор грешке у мерењу и одлучивању. Након визуелног прегледа испитујемо нормалност расподеле података применом разних статистичких тестова (Колмогоров-Смирнов тест, Shapiro-Wilk тест и др.). Уколико је неопходно да се интервал изради за подгрупе (према раси, старости, производној категорији животиња, итд.), испитујемо нормалност расподеле за сваку подгрупу. Након што смо то испитали, приступамо обрачуна референтног интервала за који постоји више метода, а правилан одабир методе врши се на основу броја узорака (N) и добијеној расподели података.

Графичко приказива референтних вредности - Нормална расподела, односно дистрибуција фреквенције представља најчешћи облик дистрибуције фреквенције, која се користи у биомедицинским истраживањима. Она се још назива и Гаусова расподела према аутору Фридриху Гаусу-у. Функција густине вероватноће нормалне расподеле одређена је са два параметра: аритметичком средином μ и варијансом σ^2 . Крива *нормалне дистрибуције* има следеће особине: површина испод кривуље = 1, звонастог облика, симетрична обзиром на правац $x = \mu$ као оса симетрије, има апсолутни максимум за $x = \mu$, крива је ужа и виша што је σ мања, аритметичка средина, модус и медијана имају исту вредност, емпиријске дистрибуције добијене у огледу или посматрањем обележја врло често се поклапају са нормалном дистрибуцијом.



Графикон 5: Утицај промене средње вредности уз константну варијансу (лево) и промене варијансе уз константну средњу вредности (десно) на изглед дистрибуције фреквенције

Мере централне тенденције дистрибуције фреквенције су:

- Средња вредност (сума вредности података подељена бројем података),
- Медијана спада у положајне мере централне тенденције. Медијана је у правом смислу централна вредност, јер она статистички низ дели на два једнака дела, од којих један део садржи 50% вредности мање од медијане, а други 50% вредности веће од медијане. Услов је да се подаци низа прво среде по величини од најмање до највеће вредности или обрнуто
- Мод, модус, типична вредност, је положајна мера централне тенденције и то је она вредност обележја или онај модалитет обележја, који има највећу фреквенцију, највећу заступљеност у оквиру укупне фреквенције.

Мере варијације су:

- Интервал варијације - Интервал варијације је мера распршености која је једнака разлици највеће и најмање вредности у серији података
- Варијанца $\sigma^2 = E(x - \mu)^2$ -мера укупне величине одступања од просека
- Стандардна девијација – квадратни корен варијансе
- Коефицијент варијације CVB) – **коефицијент варијације** је однос стандардне девијације и аритметичке средине.

Показатељи облика дистрибуције фреквенције су: а) Скевнесс $E(x - \mu)^3 / \sigma^3$ -мера тенденције одступања у једном смеру ; б) Куртосис $E(x - \mu)^4 / \sigma^4 - 3$ -мера тежине репова расподеле. Ако се вредности посматраног обележја (x) распоређују, тако око свог централног просека, да је највећи број мањих и већих вредности симетричан у односу на центар, онда се добија симетричан распоред, који се графички манифестује као симетрична звонаста линија. Ако у дистрибуцији фреквенције преовлађују екстремно веће вредности од центра онда се добија крива, која је искривљена удесно (позитивна искривљеност). Централне вредности се померају тако, да је аритметичка средина удесно (због већег учешћа високих екстремних вредности). Она има и највећу вредност у овом случају међу мерама централне тенденције. Кад дистрибуције фреквенције где преовлађују екстремно ниске вредности искривљеност је на левој страни (негативна искривљеност) и аритметичка средина има мању вредност и од медијане и од мода (погледати графикон испод).

Вероватноћа (p) да нормално дистрибуирана случајна варијабла (x) с аритметичком средином (μ) и стандардном девијацијом (σ) лежи између:

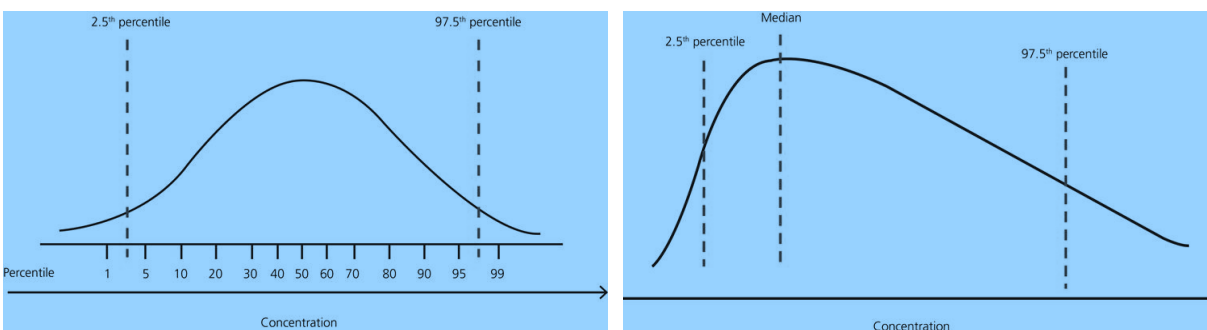
$$\begin{aligned}(\mu - \sigma) \text{ и } (\mu + \sigma) &= 0,68 \text{ (68\%)} \\(\mu - 1,96\sigma) \text{ и } (\mu + 1,96\sigma) &= 0,95 \text{ (95\%)} \\(\mu - 2,58\sigma) \text{ и } (\mu + 2,58\sigma) &= 0,99 \text{ (99\%)}\end{aligned}$$

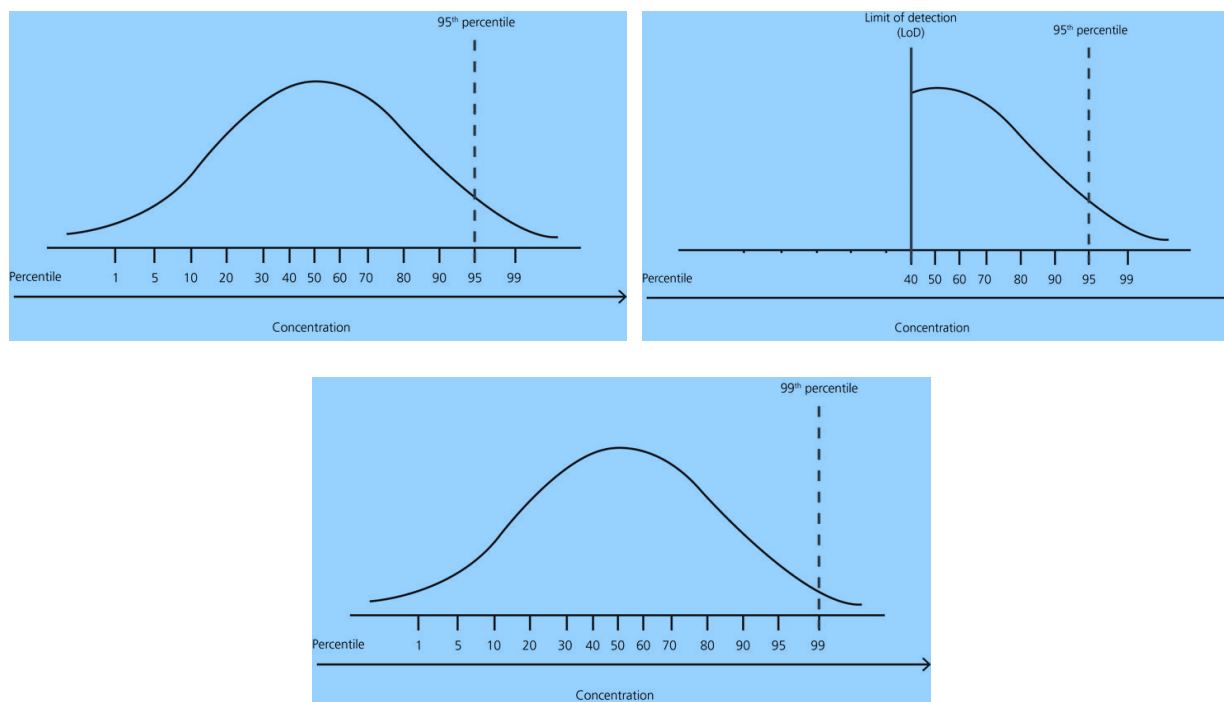
Провера нормалности расподеле је од великог значаја, јер од тога зависи избор статистичких тестова. Расподела се може сматрати нормалном ако је $CV < 30\%$, а вредност Скевнесс анд Куртосис (закривљеност и спљоштеност) између -1 и +1, док вредност изван распона -3 до +3 сигурно указују да дистрибуција није нормална. Најпрецизније је урадити статистичко тестирање нормалности нпр. Колмогоров-Смирнов тест, Shapiro-Wilk тест или D'Agostino-Pearson тест. Ако је $p < 0,05$ у овим тестовима, емпиријска расподела статистички значајно одступа од нормалне расподеле. Ако је теоријска дистрибуција фреквенције нормална користе се параметерски статистички тестови, а ако теоријска дистрибуција не одговара нормалној користе се непараметарски статистички тестови.

Табеле – У дескриптивној статистици и током прикупљања података неопходно је сачинити адекватне табеле. План табеле зависи од врсте студије и планиране статистичке анализе, па ће уз сваки тест, који буде престављен бити дата и табела, односно начин престављања података. Најпростије табеле су табеле у којима се представља дистрибуција фреквенције. Оне се организују тако што се са леве стране табеле уписују групне границе испитиваних података, а са леве стране учесталост јединица чије вредности испитиваног параметра улазе у оквиру групне границе. Када се приказује неколико варијабли у исто време или када желимо да прикажемо вредности варијабли у различитим групама (нпр. огледна и контролна), такве табеле се називају табеле пресека (енг. cross-tabulation tables).

Код аналитичких табела пресека зависна варијабла уноси се у колоне, а независна варијабла у редове. Збирни резултати се приказују и у колонама и у редовима. Ако су вредности изражене у процентима, проценти збирно морају износити 100%. Аналитичке табеле пресека могу приказивати удруженост и повезаност између варијабли. Формирање адекватних табела потребно је због адекватног прикупљања података и објективности студије, а добро дизајнирана табела даје наговештај о закључку и пре извођења статистичких тестова.

Дистрибуција фреквенције података и граничне референтне вредности





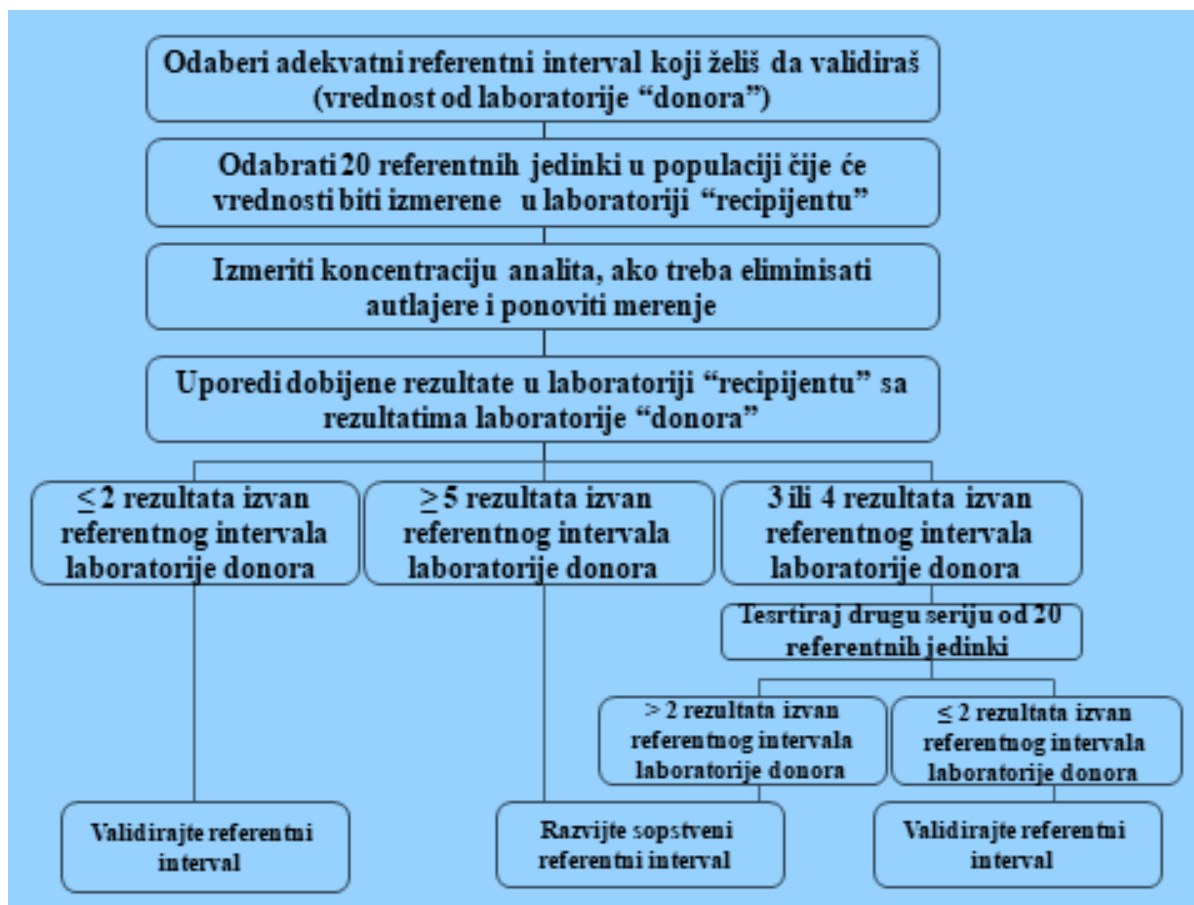
Модели за израчунавање референтног интервала – Статистички модели за израчунавање референтног интервала су непараметарска метода, параметарска метода, метода грубе процене и метода поновљеног узорковања. *Непараметарска метода* је препоручена метода за одређивање референтних интервала према смерницама Института за клиничке и лабораторијске стандарде (енгл. *Clinical and Laboratory Standards institute e – CLSI*). За ову методу потребно је минимално 120 узорака. Ова метода не узима у обзир тип расподеле података већ се свакој измереној вредности додељује ранг, тј. редослед у низу вредности поређаних по величини. Метода се заснива на одбацавању одређеног процента измерених вредности, најчешће 2,5% највиших и најнижих вредности, које се налазе на сваком крају расподеле података. *Параметарска метода* се примењује само ако референтне вредности следе Гауссову расподелу података. Најмањи број узорака је 120. Гауссова крива је одређена средњом вредношћу, која одређује средњи део дистрибуције и стандардном девијацијом, која одређује ширину дистрибуције. Поред ових података, потребно је израчунати закривљеност и спљоштеност дистрибуције, јер само анализом ових података можемо утврдити да ли је крива заиста Гауссова или само тако изгледа када је визуелно прегледамо, чиме избегавамо грешке, приликом утврђивања референтних граница. *Методу грубе процене* примењујемо када је број узорака мањи од 120, а подаци не морају показати Гауссову расподелу. *Метода поновљеног узорковања* користи се математичким моделом у којем се из целог скупа података насумично изабере одређени број измерених вредности. За одређивање је потребно најмање 100 измерених вредности. Ова метода, такође, не узима у обзир тип расподеле података. Можемо је одабрати ако примена параметарске или непараметарске методе није могућа, ако се узме у обзир критеријум величине узорка.

Поред наведеног, за сваку граничну или средњу вредност може се утврдити интервал у ком се ове вредности могу наћи. Ови интервали се називају интервали

поузданости. Интервали поузданости представљају распон вредности унутар којих са одређеном вероватноћом можемо очекивати вредности унутар референтних интервала. Што је тај интервал поузданости ужи, с већом прецизношћу се одређује референтна граница. Најчешће се користе интервали поузданости 90% и 95%. Ако проценимо да је интервал поузданости референтних граница преширок, тада морамо повећати број узорака, да бисмо с већом прецизношћу проценили референтне границе.

Референтни интервали се могу одредити у оквиру сваке методе у лабораторији, а могу се користити и референтне вредности, које су доступне у светској литератури. Без обзира на начин по коме смо одредили референтне вредности, неопходно је испитати све факторе, који могу утицати на референтну вредност: аналит за који се примењују референтни интервали, аналитичку методу, могуће преаналитичке варијације, удео референтне популације, литературне изворе података, субпопулацију (нпр. старост, раса, пол), начин изражавања и јединице, клиничко значење и примену, могућу примену „јединствених референтних интервала” (уз потврду задовољавајућих аналитичких циљева квалитета и валидацију прихватљивости), одлуку о примени одговарајућих референтних интервала.

Свака лабораторија би требала да изради сопствене референтне интервале за своју испитивану популацију. Међутим, због дужине трајања ових анализа и из економских разлога најчешће се користимо [референтним интервалима из других извора](#). Употреба тих референтних интервала је дозвољена уколико је [извршена правилна процена и валидација](#). Провера интервала може се извршити на три начина: 1. субјективном проценом; 2. верификацијом с мањим бројем референтних јединки (на 20 референтних јединки које задовољавају све постављене критеријуме за референтну популацију) и 3. верификацијом на већем броју референтних јединки (нпр. на 60 референтних јединки). Валидација референтног интервала базирана на 20 узорака приказана је на следећој шеми .



Графикон 2: Алгоритам код доношења одлуке о валидацији или одређивању сопствених референтних вредности у лабораторији

Јединице за изражавање вредности крвних параметара и фактори конверзије –

При изражавању резултата лабораторијских анализа потребно је користити Међународни мерни систем – SI (*Système International d'Unités*), који се састоји од основних и изведених мерних јединица. Осим тога, у клиничкој биохемији је из практичних разлога дозвољена употреба мерних јединица које имају посебна имена и ознаке. Концентрација свих материја којима је одређена релативна атомска маса (M) изражава се као: mol, mmol, μ mol, nmol, pmol итд. За материје које се у организму налазе у облику смеше (укупни протеини, укупни липиди и сл.) употребљавају се: kg, g, mg, μ g итд. Каталитичку активност ензима према SI треба изражавати као mol/s. У великом броју земаља још увек се користи термин 'интернационална јединица', где је 1U = 1 μ mol. У табели 1 можете видети факторе конверзије из конвенционалних јединица у SI јединице.

Табела 1: Фактори конверзије различитих анализа у крви са примерима обрачуна на референтним вредностима код људи

Analyte	Specimen	Reference Range, Conventional Unit	Conventional Unit	Conversion Factor (Multiply by)	Reference Range, SI Unit	SI Unit
Acetaminophen	Serum, plasma	10-30	µg/mL	6.614	66-200	µmol/L
Acetoacetate	Serum, plasma	<1	mg/dL	97.95	<100	µmol/L
Acetone	Serum, plasma	<1.0	mg/dL	0.172	<0.17	mmol/L
Acid phosphatase	Serum	<5.5	U/L	16.667	<90	nkat/L
Activated partial thromboplastin time (APTT)	Whole blood	25-40	s	1	25-40	s
Adenosine deaminase	Serum	11.5-25.0	U/L	16.667	190-420	nkat/L
Adrenocorticotrophic hormone (ACTH)	Plasma	<120	pg/mL	0.22	<26	pmol/L
Alanine	Plasma	1.87-5.89	mg/dL	112.2	210-661	µmol/L
Alanine aminotransferase (ALT)	Serum	10-40	U/L	0.0167	0.17-0.68	µkat/L
Albumin	Serum	3.5-5.0	g/dL	10	35-50	g/L
Aldolase	Serum	1.0-7.5	U/L	0.0167	0.02-0.13	µkat/L
Aldosterone	Serum, plasma	2-9	ng/dL	27.74	55-250	pmol/L
Alkaline phosphatase	Serum	30-120	U/L	0.0167	0.5-2.0	µkat/L
α-Aminobutyric acid	Plasma	0.08-0.36	mg/dL	96.97	8-35	µmol/L
δ-Aminolevulinic acid	Serum	15-23	µg/dL	0.0763	1.1-8.0	µmol/L
Amitriptyline	Plasma	120-250	ng/mL	3.605	433-903	nmol/L
Ammonia (as nitrogen)	Serum, plasma	15-45	µg/dL	0.714	11-32	µmol/L
Amylase	Serum	27-131	U/L	0.0167	0.46-2.23	µkat/L
Androstenedione	Serum	75-205	ng/dL	0.0349	2.6-7.2	nmol/L
Angiotensin I	Plasma	<25	pg/mL	0.772	<15	pmol/L
Angiotensin II	Plasma	10-60	pg/mL	0.957	0.96-58	pmol/L
Angiotensin-converting enzyme	Serum	<40	U/L	16.667	<670	nkat/L
Anion gap Na ⁺ -(Cl ⁻ + HCO ₃ ⁻)	Serum, plasma	8-16	mEq/L	1	8-16	mmol/L
Antidiuretic hormone (ADH)	Plasma	1-5	pg/mL	0.923	0.9-4.6	pmol/L
Antithrombin III	Plasma	21-30	mg/dL	10	210-300	mg/L
α ₁ -Antitrypsin	Serum	78-200	mg/dL	0.184	14.5-36.5	µmol/L
Apolipoprotein A-I	Serum	80-151	mg/dL	0.01	0.8-1.5	g/L
Apolipoprotein B	Serum, plasma	50-123	mg/dL	0.01	0.5-1.2	g/L
Arginine	Serum	0.37-2.40	mg/dL	57.05	21-138	µmol/L
Arsenic	Whole blood	<2-23	µg/L	0.0133	0.03-0.31	µmol/L
Asparagine	Plasma	0.40-0.91	mg/dL	75.689	30-69	µmol/L
Aspartate aminotransferase (AST)	Serum	10-30	U/L	0.0167	0.17-0.51	µkat/L
Aspartic acid	Plasma	<0.3	mg/dL	75.13	<25	µmol/L
Atrial natriuretic hormone	Plasma	20-77	pg/mL	0.325	6.5-2.5	pmol/L
Base excess	Whole blood	-2 to 3	mEq/L	1	-2 to 3	mmol/L
Bicarbonate	Serum	21-28	mEq/L	1	21-28	mmol/L
Bile acids (total)	Serum	0.3-2.3	µg/mL	2.448	0.73-5.63	µmol/L
Bilirubin, total	Serum	0.3-1.2	mg/dL	17.104	5.0-21.0	µmol/L
Bilirubin, direct (conjugated)	Serum	0.1-0.3	mg/dL	17.104	1.7-5.1	µmol/L
Biotin	Serum	200-500	pg/mL	0.00409	0.82-2.05	nmol/L
Bismuth	Whole blood	1-12	µg/L	4.785	4.8-57.4	nmol/L
Blood gases						
Carbon dioxide, Pco ₂	Arterial blood	35-45	mm Hg	0.133	4.7-5.9	kPa

pH	Arterial blood	7.35-7.45		1	7.35-7.45	
Oxygen, Po ₂	Arterial blood	80-100	mm Hg	0.133	11-13	kPa
Brain-type natriuretic peptide (BNP)	Plasma	<167	pg/mL	1	<167	ng/L
Bromide (toxic)	Serum	>1250	µg/mL	0.0125	>15.6	mmol/L
C1 esterase inhibitor	Serum	12-30	mg/dL	10	120-300	mg/L
C3 complement	Serum	1200-1500	µg/mL	0.001	1.2-1.5	g/L
C4 complement	Serum	350-600	µg/mL	0.001	0.35-0.60	g/L
Cadmium	Whole blood	0.3-1.2	µg/L	8.896	2.7-10.7	nmol/L
Caffeine	Serum, plasma	3-15	µg/L	0.515	2.5-7.5	µmol/L
Calcitonin	Plasma	3-26	pg/mL	0.292	0.8-7.6	pmol/L
Calcium, ionized	Serum	4.60-5.08	mg/dL	0.25	1.15-1.27	mmol/L
Calcium, total	Serum	8.2-10.2	mg/dL	0.25	2.05-2.55	mmol/L
Cancer antigen (CA) 125	Serum	<35	U/mL	1	<35	kU/L
Carbamazepine	Serum, plasma	8-12	µg/mL	4.233	34-51	µmol/L
Carbon dioxide (total)	Serum, plasma	22-28	mEq/L	1	22-28	mmol/L
Carboxyhemoglobin, toxic	Whole blood	>20	%	0.01	>0.2	Proportion of 1.0
Carcinoembryonic antigen (CEA)	Serum	<3.0	ng/mL	1	<3.0	µg/L
β-Carotene	Serum	10-85	µg/dL	0.01863	0.2-1.6	µmol/L
Carotenoids	Serum	50-300	µg/dL	0.01863	0.9-5.6	µmol/L
Ceruloplasmin	Serum	20-40	mg/dL	10	200-400	mg/L
Chloramphenicol	Serum	10-25	µg/mL	3.095	31-77	µmol/L
Chlordiazepoxide	Serum, plasma	0.4-3.0	µg/mL	3.336	1.3-10.0	µmol/L
Chloride	Serum, plasma	96-106	mEq/L	1	96-106	mmol/L
Cholesterol (total)	Serum, plasma	<200	mg/dL	0.0259	<5.18	mmol/L
Cholesterol, high-density (HDL) (low level)	Serum, plasma	<40	mg/dL	0.0259	<1.03	mmol/L
Cholesterol, low-density (LDL) (high level)	Serum, plasma	>160	mg/dL	0.0259	4.144	mmol/L
Cholinesterase	Serum	5-12	mg/L	2.793	14-39	nmol/L
Chorionic gonadotropin (β-hCG) (nonpregnant)	Serum	5	mIU/mL	1	5	IU/L
Chromium	Whole blood	0.7-28.0	µg/L	19.232	13.4-538.6	nmol/L
Citrate	Serum	1.2-3.0	mg/dL	52.05	60-160	µmol/L
Citrulline	Plasma	0.2-1.0	mg/dL	57.081	12-55	µmol/L
Clonazepam	Serum	10-50	ng/mL	0.317	0.4-15.8	nmol/L
Clonidine	Serum, plasma	1.0-2.0	ng/mL	4.35	4.4-8.7	nmol/L
Clozapine	Serum	200-350	ng/mL	0.003	0.6-1.0	µmol/L
Coagulation factor I (Fibrinogen)	Plasma	0.15-0.35	g/dL	29.41	4.4-10.3	µmol/L
Coagulation factor II (prothrombin)	Plasma	150-350	mg/dL	0.01	1.5-3.5	g/L
Coagulation factor V	Plasma	70-130	%	0.01	0.70-1.30	Proportion of 1.0
Coagulation factor VII	Plasma	60-140	%	0.01	0.60-1.40	Proportion of 1.0
Coagulation factor VIII	Plasma	50-200	%	0.01	0.50-2.00	Proportion of 1.0
Coagulation factor IX	Plasma	70-130	%	0.01	0.70-1.30	Proportion of 1.0
Coagulation factor X	Plasma	70-130	%	0.01	0.70-1.30	Proportion of 1.0
Coagulation factor XI	Plasma	70-130	%	0.01	0.70-1.30	Proportion of 1.0
Coagulation factor XII	Plasma	70-130	%	0.01	0.70-1.30	Proportion of 1.0
Cobalt	Serum	4.0-10.0	µg/L	16.968	67.9-169.7	nmol/L
Coenzyme Q10 (ubiquinone)	Plasma	0.5-1.5	µg/mL	1	0.5-1.5	mg/L
Copper	Serum	70-140	µg/dL	0.157	44866	µmol/L

Corticotropin	Plasma	<120	pg/mL	0.22	<26	pmol/L
Cortisol	Serum, plasma	5-25	µg/dL	27.588	140-690	nmol/L
C-peptide	Serum	0.5-2.5	ng/mL	0.331	0.17-0.83	nmol/L
C-reactive protein	Serum	0.08-3.1	mg/L	9.524	0.76-28.5	nmol/L
Creatine	Serum	0.1-0.4	mg/dL	76.25	8-31	µmol/L
Creatine kinase (CK)	Serum	40-150	U/L	0.0167	0.67-2.5	µkat/L
Creatine kinase-MB fraction	Serum	0-7	ng/mL	1	0-7	µg/L
Creatinine	Serum, plasma	0.6-1.2	mg/dL	88.4	53-106	µmol/L
Creatinine clearance	Serum, plasma	75-125	mL/min/1.73m ²	0.0167	1.24-2.08	mL/s/m ²
Cyclic adenosine monophosphate (cAMP)	Plasma	4.6-8.6	ng/mL	3.04	14-26	µmol/L
Cystine	Plasma	0.40-1.40	mg/dL	41.615	16-60	µmol/L
D-dimer	Plasma	<0.5	µg/mL	5.476	<3.0	nmol/L
Dehydroepiandrosterone (DHEA)	Serum	1.8-12.5	ng/mL	3.47	6.2-43.3	nmol/L
Dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S)	Serum	50-450	µg/dL	0.027	1.6-12.2	µmol/L
Deoxycorticosterone	Serum	2-19	ng/dL	0.0303	61-576	nmol/L
Albumin	Serum	52-65	%	0.01	0.52-0.65	Proportion of 1.0
α ₁ -Globulin	Serum	2.5-5.0	%	0.01	0.025-0.05	Proportion of 1.0
α ₂ -Globulin	Serum	7.0-13.0	%	0.01	0.07-0.13	Proportion of 1.0
β-Globulin	Serum	8.0-14.0	%	0.01	0.08-0.14	Proportion of 1.0
γ-Globulin	Serum	12.0-22.0	%	0.01	0.12-0.22	Proportion of 1.0
Concentration						
Albumin	Serum	3.2-5.6	g/dL	10	32-56	g/L
α ₁ -Globulin	Serum	0.1-0.4	g/dL	10	1-10	g/L
α ₂ -Globulin	Serum	0.4-1.2	g/dL	10	4-12	g/L
β-Globulin	Serum	0.5-1.1	g/dL	10	5-11	g/L
γ-Globulin	Serum	0.5-1.6	g/dL	10	5-16	g/L
Ephedrine (toxic)	Serum	>2	µg/mL	6.052	>12.1	µmol/L
Epinephrine	Plasma	<60	pg/mL	5.459	<330	pmol/L
Erythrocyte sedimentation rate	Whole blood	0-20	mm/h	1	0-20	mm/h
Erythropoietin	Serum	5-36	IU/L	1	5-36	IU/L
Estradiol (E ₂)	Serum	30-400	pg/mL	3.671	110-1470	pmol/L
Estriol (E ₃)	Serum	5-40	ng/mL	3.467	17.4-138.8	nmol/L
Estrogens (total)	Serum	60-400	pg/mL	1	60-400	ng/L
Estrone (E ₁)	Serum, plasma	1.5-25.0	pg/mL	3.698	5.5-92.5	pmol/L
Ethosuximide	Serum	40-100	mg/L	7.084	280-700	µmol/L
Ethylene glycol (toxic)	Serum, plasma	>30	mg/dL	0.1611	>5	mmol/L
Fatty acids (nonesterified)	Serum, plasma	8-25	mg/dL	0.0355	0.28-0.89	mmol/L
Fecal fat (as stearic acid)	Stool	2.0-6.0	g/d	1	2-6	g/24 h
Fenfluramine	Serum	0.04-0.30	µg/mL	4.324	0.18-1.30	µmol/L
Fentanyl	Serum	0.01-0.10	µg/mL	2.972	0.02-0.30	µmol/L
Ferritin	Serum	15-200	ng/mL	2.247	33-450	pmol/Lng/mL
α ₁ -Fetoprotein	Serum	<10	ng/mL	1	<10	µg/L
Fibrin degradation products	Plasma	<10	µg/mL	1	<10	mg/L
Fibrinogen	Plasma	200-400	mg/dL	0.0294	5.8-11.8	µmol/L
Flecainide	Serum, plasma	0.2-1.0	µg/mL	2.413	0.5-2.4	µmol/L
Fluoride	Whole blood	<0.05	mg/dL	0.5263	<0.027	mmol/L
Flurazepam (toxic)	Serum, plasma	>0.2	µg/mL	2.5	>0.5	µmol/L
Folate (folic acid)	Serum	3-16	ng/mL	2.266	7-36	nmol/L
Follicle-stimulating	Serum, plasma	1-100	mIU/mL	1	1-100	IU/L

hormone (FSH)						
Fructosamine	Serum	36-50	mg/L	5.581	200-280	mmol/L
Fructose	Serum	1-6	mg/dL	55.506	55-335	μmol/L
Galactose	Serum, plasma	<20	mg/dL	0.0555	<1.10	mmol/L
Gastrin	Serum	25-90	pg/mL	0.481	12-45	pmol/L
Glucagon	Plasma	20-100	pg/mL	1	20-100	ng/L
Glucose	Serum	70-110	mg/dL	0.0555	3.9-6.1	mmol/L
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	Whole blood	10-14	U/g hemoglobin	0.0167	0.17-0.24	nmol/g hemoglobin
Glutamic acid	Plasma	0.2-2.8	mg/dL	67.967	15-190	μmol/L
Glutamine	Plasma	6.1-10.2	mg/dL	68.423	420-700	μmol/L
γ-Glutamyltransferase (GGT)	Serum	2-30	U/L	0.0167	0.03-0.51	μkat/L
Glutethimide	Serum	2-6	μg/mL	4.603	9-28	μmol/L
Glycerol (free)	Serum	0.3-1.72	mg/dL	0.1086	0.32-0.187	mmol/L
Glycine	Plasma	0.9-4.2	mg/dL	133.2	120-560	μmol/L
Gold	Serum	<10	μg/dL	50.77	<500	nmol/L
Growth hormone (GH)	Serum	0-18	ng/mL	1	0-18	μg/L
Haloperidol	Serum, Plasma	6-24	ng/mL	2.66	16-65	nmol/L
Haptoglobin	Serum	26-185	mg/dL	10	260-1850	mg/L
Hematocrit	Whole blood	41-50	%	0.01	0.41-0.50	Proportion of 1.0
Hemoglobin	Whole blood	14.0-17.5	g/dL	10	140-175	g/L
Mean corpuscular hemoglobin (MCH)	Whole blood	26-34	pg/cell	1	26-34	pg/cell
Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)	Whole blood	33-37	g/dL	10	330-370	g/L
Mean corpuscular volume (MCV)	Whole blood	80-100	μm ³	1	80-100	fL
Hemoglobin A _{1c} (glycated hemoglobin)	Whole blood	4-7	% of total hemoglobin	0.01	0.04-0.07	Proportion of total hemoglobin
Hemoglobin A ₂	Whole blood	2.0-3.0	%	0.01	0.02-0.03	Proportion of 1.0
Histamine	Plasma	0.5-1.0	μg/L	8.997	4.5-9.0	nmol/L
Histidine	Plasma	0.5-1.7	mg/dL	64.45	32-110	μmol/L
Homocysteine	Plasma	0.68-2.02	mg/L	7.397	5-15	μmol/L
Homovanillic acid	Urine	1.4-8.8	mg/24 h	5.489	8-48	μmol/d
Hydromorphone	Serum	0.008-0.032	μg/mL	3504	28-112	nmol/L
β-Hydroxybutyric acid	Plasma	<3.0	mg/dL	96.06	<300	μmol/L
5-Hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)	Urine	2-6	mg/24 h	5.23	10.4-31.2	μmol/d
Immunoglobulin A (IgA)	Serum	40-350	mg/dL	10	400-3500	mg/L
Immunoglobulin D (IgD)	Serum	0-8	mg/dL	10	0-80	mg/L
Immunoglobulin E (IgE)	Serum	0-1500	μg/L	0.001	0-1.5	mg/L
Immunoglobulin G (IgG)	Serum	650-1600	mg/dL	0.01	6.5-16.0	g/L
Immunoglobulin M (IgM)	Serum	54-300	mg/dL	10	550-3000	mg/L
Insulin	Serum	2.0-20	μIU/mL	6.945	14-140	pmol/L
Insulinlike growth factor	Serum	130-450	ng/mL	0.131	18-60	nmol/L
Iodine	Serum	58-77	μg/L	7.88	450-580	nmol/L
Iron	Serum	60-150	μg/dL	0.179	10.7-26.9	μmol/L
Iron-binding capacity	Serum	250-450	μg/dL	0.179	44.8-80.6	μmol/L
Isoleucine	Plasma	0.5-1.3	mg/dL	76.236	40-100	μmol/L
Isoniazid	Plasma	1-7	μg/mL	7.291	7-51	μmol/L

Isopropanol (toxic)	Serum, plasma	>400	mg/L	0.0166	>6.64	mmol/L
17-Ketosteroids	Urine	3-12	mg/24 h	3.33	10-42	μmol/d
Lactate	Plasma	5.0-15	mg/dL	0.111	0.6-1.7	mmol/L
Lactate dehydrogenase (LDH)	Serum	100-200	U/L	0.0167	1.7-3.4	μkat/L
LDH isoenzymes						
LD ₁	Serum	17-27	%	0.01	0.17-0.27	Proportion of 1.0
LD ₂	Serum	27-37	%	0.01	0.27-0.37	Proportion of 1.0
LD ₃	Serum	18-25	%	0.01	0.18-0.25	Proportion of 1.0
LD ₄	Serum	3-8	%	0.01	0.03-0.08	Proportion of 1.0
LD ₅	Serum	0-5	%	0.01	0-0.05	Proportion of 1.0
Leucine	Plasma	1.0-2.3	mg/dL	76.237	75-175	μmol/L
Lipase	Serum	31-186	U/L	0.0167	0.5-3.2	μkat/L
Lipoprotein(a) [Lp(a)]	Serum	10-30	mg/dL	0.0357	0.35-1.0	μmol/L
Lithium	Serum	0.6-1.2	mEq/L	1	0.6-1.2	mmol/L
Luteinizing hormone (LH)	Serum, plasma	1-104	mIU/mL	1	1-104	IU/L
Lysine	Plasma	1.2-3.5	mg/dL	68.404	80-240	μmol/L
Lysozyme	Serum, plasma	0.4-1.3	mg/dL	10	4-13	mg/L
Magnesium	Serum	1.3-2.1	mEq/L	0.5	0.65-1.05	mmol/L
Manganese	Whole blood	10-12	μg/L	18.202	182-218	nmol/L
Mercury	Serum	<5	μg/L	4.985	<25	nmol/L
Methemoglobin	Whole blood	<0.24	g/dL	155	<37.2	μmol/L
Methemoglobin	Whole blood	<1.0	% of total hemoglobin	0.01	<0.01	Proportion of total hemoglobin
β ₂ -Microglobulin	Serum	1.2-2.8	mg/L	1	1.2-2.8	mg/L
Myoglobin	Serum	19-92	μg/L	0.0571	1.0-5.3	nmol/L
Naproxen	Serum	26-70	μg/mL	4.343	115-300	nmol/L
Niacin (nicotinic acid)	Urine	2.4-6.4	mg/24 h	7.3	17.5-46.7	μmol/d
Nickel	Whole blood	1.0-28.0	μg/L	17.033	17-476	nmol/L
Nicotine	Plasma	0.01-0.05	mg/L	6.164	0.062-0.308	μmol/L
Nitrogen (nonprotein)	Serum	20-35	mg/dL	0.714	14.3-25.0	mmol/L
Nitroprusside (as thiocyanate)		6-29	μg/mL	17.2	103-500	μmol/L
Norepinephrine	Plasma	110-410	pg/mL	5.911	650-2423	pmol/L
Ornithine	Plasma	0.4-1.4	mg/dL	75.666	30-106	μmol/L
Osmolality	Serum	275-295	mOsm/kg	1	275-295	mmol/kg
Osteocalcin	Serum	3.0-13.0	ng/mL	1	3.0-13.0	μg/L
Oxalate	Serum	1.0-2.4	mg/mL	11.107	11-27	μmol/L
Oxycodone	Serum	10-100	ng/mL	3.171	32-317	nmol/L
Oxygen, partial pressure (P _{O2})	Arterial blood	80-100	mm Hg	0.133	11-13	kPa
Parathyroid hormone	Serum	10-65	pg/mL	1	10-65	ng/L
Pepsinogen	Serum	28-100	ng/mL	1	28-100	μg/L
Phenylalanine	Plasma	0.6-1.5	mg/dL	60.544	35-90	μmol/L
Phenylpropanolamine	Serum	0.05-0.10	μg/mL	6613	330-660	nmol/L
Phosphorus (inorganic)	Serum	2.3-4.7	mg/dL	0.323	0.74-1.52	mmol/L
Placental lactogen	Serum	0.5-1.1	μg/mL	46.296	23-509	nmol/L
Plasminogen (antigenic)	Plasma	10-20	mg/dL	0.113	1.1-2.2	μmol/L
Plasminogen activator inhibitor	Plasma	4-40	ng/mL	19.231	75-750	pmol/L
Platelet count (thrombocytes)	Whole blood	150-350	×10 ³ /μL	1	150-350	×10 ⁹ /L
Porphyrins (total)	Urine	20-120	μg/L	1.203	25-144	nmol/L
Potassium	Serum	3.5-5.0	mEq/L	1	3.5-5.0	mmol/L
Prealbumin	Serum	19.5-35.8	mg/dL	10	195-358	mg/L
Pregnanediol	Urine	<2.6	mg/24 h	3.12	<8	μmol/d
Pregnanetriol	Urine	<2.5	mg/24 h	2.972	<7.5	μmol/d

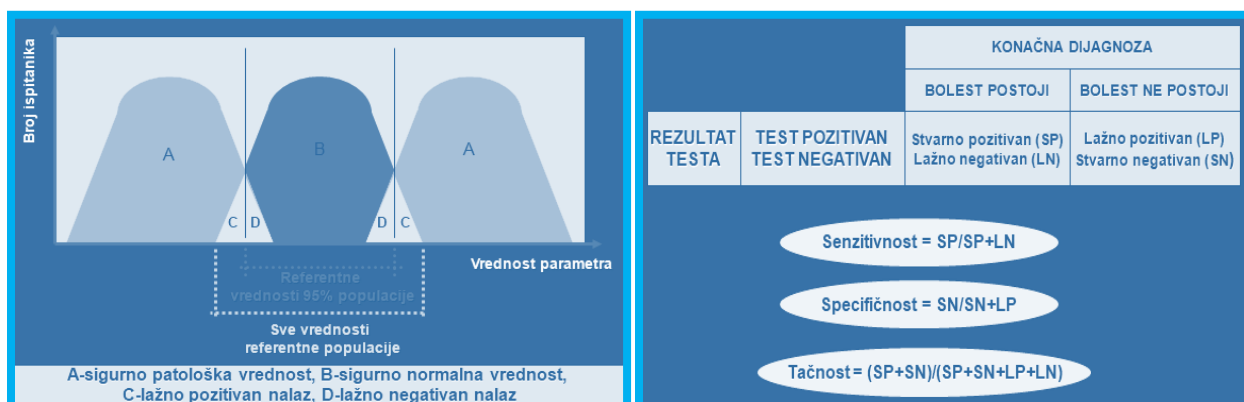
Primidone	Serum, plasma	5-12	µg/mL	4.582	23-55	µmol/L
Progesterone	Serum	0.15-25	ng/mL	3.18	0.5-79.5	nmol/L
Prolactin	Serum	3.8-23.2	µg/L	43.478	165-1010	pmol/L
Proline	Plasma	1.2-3.9	mg/dL	86.858	104-340	µmol/L
Propoxyphene	Plasma	0.1-0.4	µg/mL	2.946	0.3-1.2	µmol/L
Propranolol	Serum	50-100	ng/mL	3.856	193-386	nmol/L
Prostate-specific antigen	Serum	<4.0	ng/mL	1	<4.0	µg/L
Protein (total)	Serum	6.0-8.0	g/dL	10	60-80	g/L
Prothrombin time (PT)	Plasma	10-13	s	1	10-13	s
Protoporphyrin	Red blood cells	15-50	µg/dL	0.0178	0.27-0.89	µmol/L
Protriptyline	Serum, plasma	70-250	µg/dL	3.787	266-950	nmol/L
Pyruvate	Plasma	0.5-1.5	mg/dL	113.56	60-170	µmol/L
Quinidine	Serum	2.0-5.0	µg/mL	3.082	6.2-15.4	µmol/L
Red blood cell count	Whole blood	3.9-5.5	×10 ⁶ /µL	1	3.9-5.5	×10 ¹² /L
Renin	Plasma	30-40	pg/mL	0.0237	0.7-1.0	pmol/L
Reticulocyte count	Whole blood	25-75	×10 ³ /µL	1	25-75	×10 ⁹ /L
Reticulocyte count	Whole blood	0.5-1.5	% of red blood cells	0.01	0.005-0.015	Proportion of red blood cells
Selenium	Serum, plasma	58-234	µg/L	0.0127	0.74-2.97	µmol/L
Serine	Plasma	0.7-2.0	mg/dL	95.156	65-193	µmol/L
Serotonin (5-hydroxytryptamine)	Whole blood	50-200	ng/mL	0.00568	0.28-1.14	µmol/L
Sex hormone-binding globulin	Serum	1.5-2.0	µg/mL	8.896	13-17	nmol/L
Sodium	Serum	136-142	mEq/L	1	136-142	mmol/L
Somatomedin C (Insulinlike growth factor)	Serum	130-450	ng/mL	0.131	18-60	nmol/L
Somatostatin	Plasma	<25	pg/mL	0.611	<15	pmol/L
Streptomycin	Serum	7-50	mg/L	1.719	12-86	µmol/L
Substance P	Plasma	<240	pg/mL	0.742	<180	pmol/L
Sulfate	Serum	10-32	mg/L	31.188	310-990	µmol/L
Sulfmethemoglobin	Whole blood	<1.0	% of total hemoglobin	0.01	<0.010	Proportion of total hemoglobin
Taurine	Plasma	0.3-2.1	mg/dL	79.91	24-168	µmol/L
Testosterone	Serum	300-1200	ng/dL	0.0347	10.4-41.6	nmol/L
Threonine	Plasma	0.9-2.5	mg/dL	84	75-210	µmol/L
Thrombin time	Plasma	16-24	s	1	16.24	s
Thyroglobulin	Serum	3-42	ng/mL	1	3-42	µg/L
Thyrotropin	Serum	0.4-4.2	mIU/L	1	0.4-4.2	mIU/L
Thyroxine, free (FT ₄)	Serum	0.9-2.3	ng/dL	12.871	12-30	pmol/L
Thyroxine, total (T ₄)	Serum	5.5-12.5	µg/dL	12.871	71-160	nmol/L
Thyroxine-binding globulin	Serum	16.0-24.0	µg/mL	17.094	206-309	nmol/L
Tissue plasminogen activator	Plasma	<0.04	IU/mL	1000	<40	IU/L
Transferrin	Serum	200-400	mg/dL	0.123	2.5-5.0	µmol/L
Triglycerides	Serum	<160	mg/dL	0.0113	1.8	mmol/L
Triiodothyronine, free (FT ₃)	Serum	130-450	pg/dL	0.0154	2.0-7.0	pmol/L
Triiodothyronine, total (T ₃)	Serum	60-180	ng/dL	0.0154	0.92-2.76	nmol/L
Troponin I	Serum	0-0.4	ng/mL	1	0-0.4	µg/L
Troponin T	Serum	0-0.1	ng/mL	1	0-0.1	µg/L
Tryptophan	Plasma	0.5-1.5	mg/dL	48.967	25-73	µmol/L
Tyrosine	Plasma	0.4-1.6	mg/dL	55.19	20-90	µmol/L
Urea nitrogen	Serum	8-23	mg/dL	0.357	2.9-8.2	mmol/L
Uric acid	Serum	4.0-8.0	mg/dL	59.485	240-480	µmol/L
Urobilinogen	Urine	1-3.5	mg/24 h	1.7	1.7-5.9	µmol/d

Vasoactive intestinal polypeptide	Plasma	<50	pg/mL	0.296	<15	pmol/L
Vasopressin	Plasma	1.5-2.0	pg/mL	0.923	1.0-2.0	pmol/L
Verapamil	Serum, Plasma	100-500	ng/mL	2.2	220-1100	nmol/L
Vitamin A (retinol)	Serum	30-80	µg/dL	0.0349	1.05-2.80	µmol/L
Vitamin B ₁ (thiamine)	Serum	0-2	µg/dL	29.6	0-75	nmol/L
Vitamin B ₂ (riboflavin)	Serum	4-24	µg/dL	26.6	106-638	nmol/L
Vitamin B ₃	Whole blood	0.2-1.8	µg/mL	4.56	0.9-8.2	µmol/L
Vitamin B ₆ (pyridoxine)	Plasma	5-30	ng/mL	4.046	20-121	nmol/L
Vitamin B ₁₂	Serum	160-950	pg/mL	0.7378	118-701	pmol/L
Vitamin C (ascorbic acid)	Serum	0.4-1.5	mg/dL	56.78	23-85	µmol/L
Vitamin D (1,25 dihydroxyvitamin D)	Serum	25-45	pg/mL	2.6	60-108	pmol/L
Vitamin D (25-hydroxyvitamin D)	Plasma	14-60	ng/mL	2.496	35-150	nmol/L
Vitamin E (α-tocopherol)	Serum	5-18	µg/mL	2.32	12-42	µmol/L
Vitamin K	Serum	0.13-1.19	ng/mL	2.22	0.29-2.64	nmol/L
White blood cell count	Whole blood	4500-11000	/µL	0.001	4.5-11.0	×10 ⁹ /L
Differential count						
Neutrophils-segment.	Whole blood	1800-7800	/µL	0.001	1.8-7.8	×10 ⁹ /L
Neutrophils-bands	Whole blood	0-700	/µL	0.001	0-0.70	×10 ⁹ /L
Lymphocytes	Whole blood	1000-4800	/µL	0.001	1.0-4.8	×10 ⁹ /L
Monocytes	Whole blood	0-800	/µL	0.001	0-0.80	×10 ⁹ /L
Eosinophils	Whole blood	0-450	/µL	0.001	0-0.45	×10 ⁹ /L
Basophils	Whole blood	0-200	/µL	0.001	0-0.20	×10 ⁹ /L
Differential count (number fraction)						
Neutrophils-segmented	Whole blood	56	%	0.01	0.56	Proportion of 1.0
Neutrophils-bands	Whole blood	3	%	0.01	0.03	Proportion of 1.0
Lymphocytes	Whole blood	34	%	0.01	0.34	Proportion of 1.0
Monocytes	Whole blood	4	%	0.01	0.04	Proportion of 1.0
Eosinophils	Whole blood	2.7	%	0.01	0.027	Proportion of 1.0
Basophils	Whole blood	0.3	%	0.01	0.003	Proportion of 1.0
Zinc	Serum	75-120	µg/dL	0.153	11.5-18.5	µmol/L

Клиничка интерпретација и референтне вредности – Након извршених лабораторијских анализа увек се врши тумачење резултата. Тумачење резултата се врши поређењем добијене вредности са референтним вредностима. Због тога је потребно знати референтне вредности за испитивану популацију. Већ смо рекли да код различитих болести углавном постоји одређени степен преклапања између референтних вредности код здравих једнки и вредности код оболеле популације. Разликујемо: референтне вредности – 95% популације (стварно негативно – нема болести а вредности у оквиру референтне популације), лажно позитивне вредности (тест позитиван-вредности изван референтних, болест не постоји), лажно негативне вредности (тест негативно-вредности у оквиру референтних, болест постоји) и патолошке вредности (стварно позитивне вредности). На основу наведених случајева, за сваки лабораторијски параметар, односно лабораторијски тест се може одредити сензитивност, специфичност и тачност лабораторијског теста, у дијагностици одређене болести.

Сензитивност (истински позитивна стопа, вероватноћа детекције) изражава пропорцију позитивних исхода, који су коректно идентификовани као такви (нпр.,

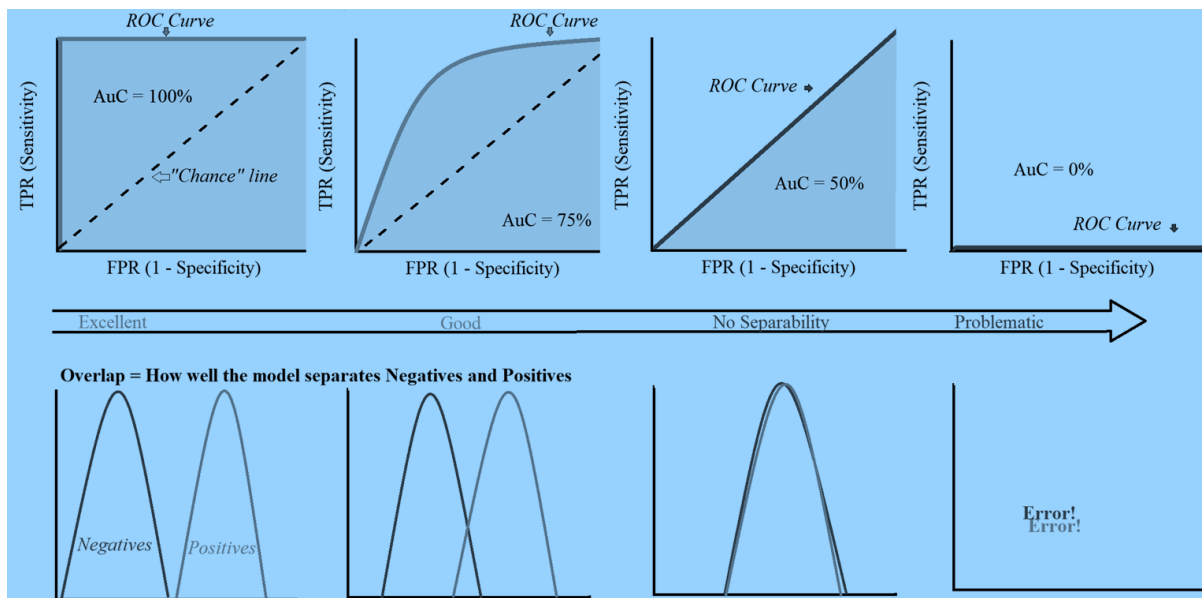
проценат болесних јединки које су коректно идентификовани да су оболели). Специфичност (такође позната као истински негативна стопа) је мера пропорције негативних исхода, који су коректно идентификовани као такви (нпр., проценат здравих јединки које су коректно идентификоване као здраве, односно као оне које нису оболеле). Сензитивност квантификује избегавање лажно негативних, док специфичност чини исто за лажно позитивне. При тестирању, обично постоји компромис између ових мера. Стога се компромис може графички приказати као ROC крива. Перфектан предсказивач одређује са 100% сензитивности (нпр., сви болесни су идентификовани као болесни) и 100% специфичности (нпр., ниједна здрава особа није идентификована као болесна), али је у пракси таква ситуација ретка.



Референтне вредности и дијагностички значај тестова

ROC крива (Receiver Operating Characteristic curve, ROC) је графичка техника, која се користи као алат за евалуацију карактеристика одређивања. То је метода за евалуацију осетљивости и специфичности лабораторијских одређивања при различитим нивоима одлучивања. Овом кривом се приказује однос осетљивости и специфичности при различитим нивоима одлучивања. ROC крива се добија приказивањем стварно позитивних резултата (y-оса) насупрот лажно позитивним резултатима (x-оса). X-оса дијаграма приказује део здравих пацијената, који су погрешно сврстани као позитивни при одређеном специфичном нивоу одлучивања. Ови лажно позитивни резултати математички одговарају $[1 - \text{специфичност}]$. Y-оса приказује стварно позитивне резултате [осетљивост]. Свака тачка ROC криве представља *пар осетљивост/специфичност*, који одговара појединачном нивоу одлучивања. ROC крива одређивања, које се одликује комплетним раздвајањем (нема преклапања расподеле резултата две групе) пролази кроз горњи леви угао где стварно позитивни удео износи 1,0 односно осетљивост 100%, а лажно позитивни део 0, односно специфичност 100%. Теоретска крива за тест код кога нема раздвајања (идентична расподела резултата две групе) је дијагонална линија од 45° од доњег левог угла до горњег десног угла. Већина ROC кривих се налази између ове две крајности и што је крива ближа горњем левом углу тест, који она репрезентује је веће тачности. Ако поредимо више ROC кривих она, која се налази изнад и на лево у односу на неку другу је крива, која указује на већу тачност, па се тако може поредити више лабораторијских тестова. **Површина испод ROC криве** је најопштија мера дијагностичке тачности (енг. Area under curve, AUC). По договору AUC је увек $\geq 0,5$; ако је мање од тога, онда је потребно

поставити обрнуто правило одлучивања. Вредности се налазе између 1,0 (комплетно раздвајање вредности одређивања две групе) и 0,5 (без јасне дистрибуционе разлике између вредности одређивања две групе). AUC је дескриптиван израз о томе колико је ROC крива близу најбољој могућности ($AUC = 1,0$). Постоје методе којима се израчунава статистичка значајност разлике између површине двеју кривих. На пример уколико је AUC 0,8 то значи да случајно одабран пацијент из групе болесних има вредност лабораторијског одређивања већу него случајно одабран пацијент из групе здравих у 80% случајева. Однос РОЦ криве, површине испод криве и подељеност дистрибуције фреквенције здравих и болесних приказан је на графикону.



Преклапање дистрибуција фреквенција популације здравих и болесних јединки и површина испод ROC криве (<https://www.datasciencecentral.com/roc-curve-explained-in-one-picture/>)

Следи преглед референтних вредности различитих животињских врста.

Упоредне референтне вредности код паса и мачака Cornell универзитет

Analyte	Units	Canine	Feline
Sodium	mEq/L	143-150	149-158
Potassium	mEq/L	4.1-5.4	3.8-5.5
Chloride	mEq/L	106-114	111-124
Bicarbonate	mEq/L	14-24	14-20
Anion Gap	mEq/L	17-27	18-29
Urea nitrogen	mg/dL	9-26	17-35
Creatinine	mg/dL	0.6-1.4	0.8-2.1
Calcium	mg/dL	9.4-11.1	9.0-11.3
Phosphate	mg/dL	2.7-5.4	2.6-5.5
Magnesium	mEq/L	1.5-2.1	1.7-2.2
Total protein	g/dL	5.5-7.2	6.6-8.4
Albumin	g/dL	3.2-4.1	3.2-4.3
Globulin	g/dL	1.9-3.7	2.9-4.7
A/G ratio		0.9-1.9	0.8-1.5
Glucose	mg/dL	68-104	71-182
ALT	U/L	17-95	28-109
AST	U/L	18-56	17-48
SDH	U/L	3-13	1-11
GLDH	U/L	1-20	0-12
LDH	U/L	24-388	71-406
ALP	U/L	7-115	11-49
GGT	U/L	0-8	0-2
Total bilirubin	mg/dL	0-0.2	0-0.1
Direct bilirubin	mg/dL	0-0.1	0-0
Indirect bilirubin	mg/dL	0-0.1	0-0.1
Cholesterol	mg/dL	136-392	101-323
Triglycerides	mg/dL	23-102	30-106
Amylase	U/L	322-1310	603-2183
Lipase DGGR	U/L	15-228	7-23
CK	U/L	64-314	74-386
Iron	µg/dL	97-263	59-169
TIBC	µg/dL	280-489	222-423
%Sat	%	27-66	20-56
Bile Acids**	umol/L		
NEFA	mEq/L	0.13-1.25	0.15-1.05
BHB	mg/dL	0-1	0-1.0
Fructosamine	umol/L	266-381	219-365
Uric acid	mg/dL	0.1-0.4	0-0.3
Ionized Calcium (ABL-800 Flex)	mmol/L	1.16 - 1.40	1.11 - 1.38
Cholinesterase	U/L	3164-8164	1540-4055
SAA+	ug/mL		
C-reactive protein++	mg/L	0-12	
Test	Units	Canine	Feline
HCT*	%	41 - 58	31 - 48
RBC*	x10 ⁶ /µL	5.7 - 8.5	6.9 - 10.1

Hgb*	g/dl	14.1 - 20.1	10.9 - 15.7
MCV*	fL	64 - 76	40 - 52
MCH*	pg	21 - 26	13 - 17
MCHC*	g/dL	33-36	32 - 35
RDW*	%	10.6 - 14.3	13.2 - 17.5
NRBC	/100 WBC	0-1	0-1
Retic*	%	0.2 - 1.5	0.1 - 0.7
Retic*	x 10 ⁹ /L	11 - 92	9-61
WBC*	x10 ³ /μL	5.7 - 14.2	5.1 - 16.2
Neuts	x10 ³ /μL	2.7 - 9.4	2.3 - 11.6
Bands	x10 ³ /μL	0 - 0.1	0 - 0.1
Lymphs	x10 ³ /μL	0.9 - 4.7	0.9 - 6
Monos	x10 ³ /μL	0.1 - 1.3	0 - 0.7
Eos	x10 ³ /μL	0.1 - 2.1	0.1 - 1.8
Basos	x10 ³ /μL	0 - 0.1	0 - 0.2
PLT*	x10 ³ /μL	186 - 545	195 - 624
MPV*	fL	8.4 - 14.1	9.1 - 24.3
TP-Ref.	g/dL	5.9 - 7.8	5.9 - 7.5

Референтне вредности код паса и мачака Iowa универзитет

Test	Unit	Canine	Feline
Bile Acids - 12 hr fasting	μmol/L	1 - 20	1 - 13
Bile Acids - 2 hr pp	μmol/L	1 - 30	1 - 25
pH		7.31 - 7.42	7.24 - 7.40
pCO2	mmHg	29 - 42	29 - 42
pO2	mmHg	85 - 95	85 - 95
HCO3	mEq/L	17 - 24	17 - 24
Serum Osmolality	mOsm/kg	280 - 305	280 - 305
Total Protein	g/dL	5.2 - 7.1	6.1 - 8.0
Albumin	g/dL	2.7 - 4.0	2.8 - 4.0
Bilirubin - Total	mg/dL	0.10 - 0.60	0.10 - 0.50
Alk Phos	IU/L	20 - 150	25 - 70
ALT/SGPT	IU/L	24 - 90	20 - 120
AST/SGOT	IU/L	5 - 50	20 - 60
CK	IU/L	55 - 200	50 - 450
GGT	IU/L	5 - 16	1 - 10
LDH	IU/L	50 - 520	60 - 490
SDH	U/L	0 - 8	0 - 8
Cholesterol	mg/dL	132 - 300	75 - 260
Triglyceride	mg/dL	24- 115	21 - 120
Lipase	U/L	100 - 700	0 - 175
Na	mEq/L	141 - 151	152 - 159
K	mEq/L	3.9 - 5.3	3.8 - 5.4
Cl	mEq/L	112 - 121	118 - 126
TCO2	mEq/L	19 - 26	15 - 23
Anion Gap	mEq/L	8 - 17	13 - 22
Ca	mg/L	9.7 - 11.3	8.5 - 11.2
iCa	mg/dL	5.0 - 5.8	4.0 - 5.6
Phos	mg/L	3.2 - 6.0	3.0 - 6.9
Mg	mg/L	1.70 - 2.50	1.97 - 2.50

BUN	mg/L	10 - 30	15 - 29
Creat	mg/dL	0.5 - 1.5	0.8 - 2.1
Glucose	mg/dL	68 - 115	70 - 120
Cortisol- resting	ug/dL	1.0 - 5.0	1.0 - 5.0
Cortisol- post ACTH		5.5 - 2.0	4.5 - 15.0
Cortisol- post Dex		see report	see report
T4	ug/dL	1.0 - 3.0	1.0 - 4.0
PT	sec	5.4 - 11.9	5.4 - 11.9
PTT	sec	8.9 - 18.7	8.9 - 18.7
D-Dimer	ng/ml	0 - 400	0 - 400
WBC	10 ³ /uL	6.0 - 17.0	5.5 - 19.5
Band neutrophils	10 ³ /uL	0.0 - 0.3	0.0 - 0.3
Segmented neutrophils		3.0 - 11.4	2.5 - 12.5
Lymphocytes		1.0 - 4.8	1.5 - 7.0
Monocytes		0.15 - 1.35	0.0 - 0.85
Eosinophils		0.1 - 0.75	0.0 - 0.75
Basophils		0.0 - 0.1	0.0 - 0.1
RBC	1X10 ⁶ /uL	5.5 - 8.5	5 - 10
Hb	g/dL	12-18 (8-12)*	10-15 (8-11)*
Hct	%	37-55 (25-37)*	30-45 (24-34)*
MCV	fL	60 - 77	39 - 55
MCH	pg	19.5 - 30	12.5 - 17.5
MCHC	g/dL	32 - 36	30 - 36
Platelets	1X10 ³ /ul	200 - 500	300 - 800
Plasma Protein	g/dL	5.3 - 7.2	6.3 - 8.2
Fibrinogen	mg/dL	100 - 400	100 - 400

Дескриптивна статистика за крвне параметре код крава

	Jedinica	Mean	Std. Deviation	Skewness	Kurtosis	Percentiles		
						25	50	75
TPROT	g/L	69,87	6,84	-0,22	-0,30	65,00	71,00	74,00
ALB	g/L	32,36	5,12	-0,37	-0,09	29,00	32,99	36,00
GLOB	g/L	37,52	7,75	0,16	0,54	33,00	37,15	41,10
TBIL	μmol/L	9,11	6,70	2,17	5,80	4,64	6,98	11,35
AST	U/L	113,49	48,25	2,48	11,42	84,00	100,00	130,75
GGT	U/L	23,85	8,59	0,46	0,05	18,00	23,00	29,00
Glukoza	mmol/L	2,61	0,76	0,17	0,46	2,11	2,55	3,09
Ca	mmol/L	2,26	0,31	0,09	3,24	2,09	2,26	2,42
P	mmol/L	2,07	0,40	0,59	2,46	1,87	2,06	2,23
Urea	mmol/L	4,62	1,38	0,40	-0,15	3,63	4,50	5,40
Holesterol	mmol/L	4,26	1,67	0,13	-0,54	2,81	4,48	5,30
Trigliceridi	mmol/L	0,21	0,10	0,81	1,25	0,14	0,21	0,27
BHB	mmol/L	0,68	0,29	0,71	0,12	0,45	0,62	0,89
NEFA	mmol/L	0,50	0,23	0,33	-0,66	0,32	0,49	0,69
WBC	×10 ⁹ /L	10,96	4,48	2,74	12,21	8,43	9,90	12,30
Ly	×10 ⁹ /L	5,47	3,26	4,52	35,45	3,80	4,90	6,90
Gr	×10 ⁹ /L	5,62	3,65	2,76	13,18	3,73	5,10	6,90
RBC	×10 ¹² /L	6,61	1,10	0,43	-0,10	5,80	6,50	7,29
HGB	g/L	92,50	16,76	-1,05	6,55	82,10	92,00	101,00
HCT	%	29,91	3,69	-0,16	0,70	27,90	29,90	32,00

MCV	fL	50,70	6,09	0,35	-0,47	45,90	50,00	55,00
MCH	pg	14,32	1,67	0,05	-0,36	13,20	14,25	15,50
MCHC	g/L	316,32	12,99	0,54	1,91	309,00	315,00	323,00
PLT	$\times 10^9/L$	407,46	167,59	-0,07	-0,98	255,00	428,95	537,90
T3	ng/mL	2,58	1,45	1,61	4,27	1,60	2,30	3,30
T4	ng/mL	113,85	55,77	1,22	1,03	69,45	98,70	142,40
INSULIN	$\mu U/mL$	4,52	2,70	0,71	0,58	2,35	4,40	6,45
GH	ng/mL	41,62	18,86	0,15	-0,52	27,30	43,70	54,60

Дескриптивна статистика референтних вредности биохемијских параметара код јуница

	Minimum 95%CI	Maximum 95%CI	Mean $\pm$ SE		Std. Deviation	Variance
UkupniProteini (g/L)	53	81	69,06	0,65	6,64	44,12
Albmini (g/L)	21	40	31,27	0,5	5,36	28,69
Globulini (g/L)	31,5	41	37,78	0,7	7,58	57,38
UkupniBilirbin ($\mu mol/L$)	1,5	11,5	6,29	0,26	2,68	7,19
AST (IU/L)	43,1	115	74,31	2,05	21,03	442,48
GGT(IU/L)	9,0	35	23,93	0,77	7,9	62,44
Glukoza (mmol/L)	2	5,8	4,1	0,1	1,04	1,07
Ca (mmol/L)	1,85	3,55	2,34	0,03	0,3	0,08
P (mmol/L)	1,45	3,7	2,8	0,05	0,52	0,26
Urea (mmol/L)	2,2	5,9	3,7	0,1	1,05	1,11
Holesterol (mmol/L)	1,1	3,3	2,04	0,07	0,71	0,51
Trigliceridi (mmol/L)	0,1	0,3	0,19	0,01	0,09	0,01
BHB (mmol/L)	0,2	0,7	0,56	0,02	0,19	0,04
NEFA (mmol/L)	0,05	0,35	0,17	0,01	0,08	0,01

Дескриптивна статистика референтних вредности хематолошких параметара код јуница

		95 % CI lower	95 % CI upper	Normality (Kolmogorov- Smirnov test)	Mean	Minimum	Maximum	Percentiles		
								25	50	75
WBC	$\times 10^9/L$	10,6	13,13	No	11,87	0,70	40,20	8,35	9,90	12,42
Ly	$\times 10^9/L$	4,5	6,6	No	5,60	0,40	36,50	3,20	4,10	5,50
Gr	$\times 10^9/L$	5,98	7,98	No	6,98	0,30	29,00	4,25	5,60	7,30
RBC	$\times 10^{12}/L$	6,58	6,95	Yes	6,77	4,80	8,60	5,97	6,87	7,50
HGB	g/L	84,1	90,6	No	87,35	6,00	115,00	80,50	89,00	96,00
HCT	%	28,9	30,39	Yes	29,69	18,00	39,00	27,43	29,90	32,00
MCV	fL	49,46	51,76	Yes	50,61	35,70	65,00	45,85	50,20	55,00
MCH	pg	13,3	14,46	No	13,88	1,32	18,50	12,95	14,30	15,50
MCHC	g/L	314,37	319,77	Yes	317,07	285	380	309,00	315,00	323,00
PLT	$\times 10^9/L$	255,94	309,96	No	282,95	31,00	847,00	191,00	255,00	357,50

Референтне вредности хематолошких параметара код овнова

	Donja vrednost	95%CI za donju vrednost	Gornja vrednost	95%CI za gornju vrednost	Mean	Std. Deviation	Skewness	Kurtosis	Normal distribution
WBC	4,34	4,01-4,67	17,00	16,7-17,3	10,67	3,17	1,07	2,04	No
RBC	7,03	6,89-7,17	12,31	12,1-12,4	9,67	1,32	0,07	0,03	Yes
HGB	72,73	71,4-73,8	119,18	119-121	95,95	11,61	0,61	0,71	No
HTC	21,97	21,6-22,4	36,77	36,4-37,2	29,37	3,70	0,50	0,72	Yes
MCV	26,55	26,4-26,7	34,23	34,0-34,3	30,39	1,92	0,17	2,33	No
MCH	8,57	8,5-8,64	11,34	11,3-11,4	9,95	0,69	0,03	0,92	No
MCHC	311,32	310-312	345,16	344-346	328,24	8,46	-0,54	0,35	No
PLT	118,00	107-129	556,45	545-567	337,22	109,6	0,18	-0,59	Yes

Референтне вредности биохемијских параметара код овнова

	Donja vrednost	95%CI za donju vrednost	Gornja vrednost	95%CI za gornju vrednost	Mean	Std. Deviation	Skewness	Kurtosis	Normal distribution
TPROT	56,53	56,2-56,9	70,51	70,2-70,9	63,52	3,49	-0,14	0,83	No
ALB	29,81	29,5-30,1	40,05	39,8-40,3	34,93	2,56	-0,22	0,37	Yes
GLOB	22,13	21,8-22,5	35,05	34,7-35,4	28,59	3,23	0,23	0,22	Yes
UREA	2,25	2,06-2,44	9,57	9,38-9,76	5,91	1,83	0,00	-0,67	No
TBIL	2,21	1,97-2,47	11,35	11,1-11,6	6,78	2,29	1,11	2,33	No
GLU	2,41	2,32-2,5	6,93	6,84-7,02	4,59	0,83	1,16	3,59	No
CHOL	0,93	0,90-0,95	1,91	1,89-1,93	1,42	0,24	0,10	0,15	Yes
AST	58,73	53,9-63,5	244,84	239-249	151,79	46,53	0,74	0,01	No
BHB	0,18	0,17-0,19	0,54	0,53-0,55	0,36	0,09	1,21	1,47	No
LDH	172,63	165-179	455,49	448-462	314,06	70,72	0,42	-0,56	No

Дескриптивна статистика за испитане метаболичке параметре код коза у перипарталном периоду

	Mean	SD	Skewness	Kurtosis	Minimum	Maximum	Percentiles		
							25	50	75
GLU mmol/L	3,39	0,64	0,40	0,26	2,00	5,44	2,90	3,40	3,86
BHB mmol/L	0,37	0,19	2,11	7,99	0,10	1,40	0,20	0,30	0,50
NEFA mmol/L	0,19	0,20	2,57	10,02	0,00	1,40	0,10	0,16	0,24
Ca mmol/L	2,17	0,27	0,90	1,72	1,50	3,01	2,08	2,10	2,30
P mmol/L	2,92	0,99	0,69	0,00	0,80	5,90	2,20	2,73	3,60
TPROT g/L	70,45	6,48	-0,21	-0,20	53,30	84,10	66,28	70,45	75,13
ALB g/L	30,87	3,19	-0,62	1,30	20,20	39,60	29,38	31,00	32,90
GLOB g/L	39,58	6,59	0,01	-0,33	21,20	54,30	34,95	39,25	44,25
UREA mmol/L	9,22	1,88	0,08	-0,52	4,80	14,30	7,58	9,10	10,60

Крвни параметри код прасади старости један дан

Day 1	Mean	Std. Error of Mean	Median	Std. Deviation	Skewness	Kurtosis	Minimum	Maximum
WBC	11,20	0,61	9,55	5,14	1,81	4,88	3,60	33,00
RBC	3,89	0,09	3,99	0,75	-0,32	0,12	2,15	5,80
HGB	75,18	1,95	78,00	16,54	-0,55	-0,04	28,00	106,00
HCT	25,42	0,54	25,87	4,58	-0,60	0,09	13,90	35,85
MCV	65,20	0,39	65,00	3,30	-0,12	0,11	57,50	73,70
MCH	21,72	0,21	21,75	1,80	0,43	0,85	17,10	26,80
MCHC	324,8	2,16	325,5	18,33	0,16	0,87	272,00	380,00
AST	88,74	4,97	79,00	42,19	2,04	5,25	28,00	250,00
TGC	1,74	0,10	1,67	0,81	1,23	2,98	0,50	5,05
CHOL	2,56	0,08	2,54	0,66	0,34	-0,53	1,44	4,06
ALT	78,53	3,05	73,00	25,89	1,69	5,65	34,00	199,00
GLU	5,91	0,17	5,90	1,42	0,49	0,99	3,10	10,70
TPROT	57,29	1,07	57,00	9,12	-0,27	-0,59	35,00	73,00
UREA	3,88	0,27	3,35	2,30	1,26	2,66	0,50	13,10
ALFA AMYLASE	947,62	25,65	954	217,66	0,86	2,02	518,10	1782,70
ALB	14,22	0,44	14,03	3,70	0,17	-0,34	6,26	23,15
GLOB	43,07	0,90	42,95	7,60	-0,08	-0,77	25,20	56,35
LIPASE	76,93	1,81	76,75	15,32	0,00	-0,17	41,00	115,90
TBIL	40,55	2,57	34,84	21,81	2,52	6,90	19,00	136,06
CORT	168,24	18,23	149,97	154,69	0,31	-1,33	1,00	492,17
INSUL	4,86	0,53	4,50	4,46	0,98	1,33	1,00	20,90

Крвни параметри код прасади старости двадесет један дан

Day 21	Mean	SE	Median	Std. Deviation	Skewness	Kurtosis	Minimum	Maximum
WBC	12,62	0,72	11,45	6,14	1,82	5,30	3,42	38,94
RBC	5,49	0,12	5,41	1,02	-0,05	-0,31	3,04	7,65
HGB	104,90	2,45	109,44	20,78	-0,61	0,55	42,92	153,92
HCT	37,39	0,88	37,96	7,47	-0,37	-0,19	18,39	54,49
MCV	73,76	0,54	73,43	4,61	0,32	-0,43	64,79	85,10
MCH	25,16	0,24	25,30	2,05	0,53	0,87	20,70	31,36
MCHC	372,38	2,73	368,95	23,14	0,37	1,18	307,36	446,50
AST	58,87	3,63	50,22	30,84	2,10	5,48	17,36	177,50
TGC	2,05	0,10	2,01	0,86	0,83	1,26	0,57	4,90
CHOL	4,04	0,12	3,95	0,98	0,32	-0,55	2,23	6,29
ALT	71,19	2,70	67,59	22,90	0,77	2,46	3,85	153,22
GLU	6,32	0,18	6,28	1,50	0,36	0,86	3,27	11,30
TPROT	67,45	1,25	68,40	10,64	-0,25	-0,46	42,00	87,60
UREA	3,86	0,27	3,52	2,33	1,60	5,10	0,47	14,54
ALFA AMYLASE	900,17	24,97	930,97	211,84	-0,49	1,30	155,00	1356,70
ALB	29,34	0,79	28,99	6,71	0,19	0,12	15,05	47,09
GLOB	38,11	1,44	39,27	12,25	0,35	-0,08	12,53	68,38
LIPASE	93,23	2,50	95,03	21,20	-0,05	-0,54	45,92	139,12

TBIL	35,07	2,90	30,79	24,58	2,66	8,62	7,81	149,66
CORT	52,63	5,69	52,00	48,31	0,55	-0,43	1,00	181,00
INSUL	2,06	0,18	2,20	1,51	0,05	-0,65	1,00	5,90

Крвни параметри код прасади старости 40-120 дана

	Mean	SD	Skewness	Kurtosis	Percentiles		
					25	50	75
WBC	24,09	6,12	0,84	1,29	20,43	23,45	26,68
NEUTRO	9,65	4,11	1,37	1,99	6,80	8,80	11,25
LYMPHO	12,10	3,63	0,68	2,19	9,43	12,45	13,98
RBC	7,06	1,07	0,12	-0,75	6,23	6,95	8,00
HGB	117,75	24,60	0,48	-0,89	99,00	110,00	138,75
HCT	36,18	6,43	0,27	-0,83	31,30	34,80	40,70
MCV	51,01	3,90	-0,55	0,23	48,93	51,05	54,15
MCH	16,62	1,60	-0,20	0,09	15,60	16,65	17,48
MCHC	325,42	12,62	0,18	-0,95	315,25	322,00	337,00
PLT	378,97	170,06	1,59	4,45	270,90	334,00	488,00
TPROT	60,62	10,29	-0,41	-0,18	56,70	60,80	67,98
ALBUMIN	29,00	8,56	0,53	-0,57	22,45	27,15	35,25
GLOBULIN	31,49	6,49	0,49	0,69	25,93	31,70	35,45
UREA	3,87	1,29	0,21	0,59	3,20	3,80	4,60
CREATININ	93,82	25,31	-0,21	-1,20	71,90	97,60	116,35
CHOL	2,60	0,36	0,85	1,84	2,40	2,55	2,80
TBIL	6,91	4,46	3,18	11,62	4,80	5,50	7,38
ALT	70,39	40,30	2,35	6,28	49,88	56,75	75,23
AST	69,61	52,67	3,26	12,06	40,48	51,65	80,08

Вредности одабраних биохемијских параметара крви код свиња расе Мангулица

	Mean	SD	Minimum	Maximum	Skewness	Kurtosis
TPROT	66,445	8,07892	55,30	81,80	0,130	-1,291
ALBUMIN	33,670	10,25574	19,40	49,70	0,027	-1,672
GLOBULIN	32,47	5,32451	23,90	49,60	1,519	5,068
UREA	4,085	1,20712	2,00	7,60	1,017	2,785
CREATININ	89,245	34,17664	45,20	139,70	0,077	-1,896
CHOLESTEROL	2,55	,31035	2,00	3,10	0,041	-0,426
BILIRUBIN	8,615	6,21435	4,50	28,70	2,560	6,322
ALT	54,275	10,34657	33,00	81,10	0,362	1,886
AST	75,215	69,33122	33,20	318,20	2,879	8,440
WBC x10 ⁹ /ml	23,13	8,37	12,50	43,90	0,86	0,22
NEUTRO x10 ⁹ /ml	10,71	4,88	4,40	23,50	0,87	0,80
LYMPHO x10 ⁹ /ml	10,21	3,66	5,50	17,60	0,60	-0,64
MONO x10 ⁹ /ml	0,95	0,75	0,20	2,70	1,00	0,14
EOS x10 ⁹ /ml	0,97	0,38	0,30	2,10	1,16	3,20
BASO x10 ⁹ /ml	0,24	0,13	0,10	0,60	1,15	1,71
RBC x10 ¹² /ml	7,19	1,46	4,80	9,60	-0,13	-1,38
Hgb g/L	127,10	32,79	80,00	166,00	-0,08	-1,84
Hct %	38,57	8,60	24,70	48,80	-0,27	-1,54

MCV fl	52,79	3,82	43,80	57,70	-0,65	-0,07
MCH	17,54	1,67	14,40	20,10	-0,35	-0,94
MCHC	331,85	11,97	309,00	349,00	-0,35	-0,93
RDW	20,15	2,62	17,20	28,20	1,71	3,50
PLT x10 ⁹ /ml	406,41	231,71	102,00	1110,00	1,56	3,27
MPV fl	8,03	0,90	6,50	9,70	-0,08	-0,80

Референтне вредности код ждребета старости 36 сати

Test	Abbreviation	Units	Mean	Range
Total erythrocytes	RBC	x10 ¹² /l	9.4	6.9-11.8
Packed cell volume	PCV	l/l	0.36	0.30-0.44
Haemoglobin	Hb	g/dl	13.2	10.2-15.4
Mean cell volume	MCV	fl	38.8	31.7-44.9
Mean cell haemoglobin concentration	McHc	g/dl	36.1	31.7-39.4
Mean cell haemoglobin	McH	pg	14.0	11.2-16.4
Total leucocytes	WBC	x10 ⁹ /l	8.8	6.2-12.4
Segmented neutrophils	Segs	x10 ⁹ /l	6.7	4.1-9.5
	Segs	%	75	58-85
Lymphocytes	Lymphs	x10 ⁹ /l	1.8	1.0-3.1
	Lymphs	%	21	14-37
Monocytes	Monos	x10 ⁹ /l	0.19	0.1-0.5
	Monos	%	2	0.5-5
Eosinophils	Eos	x10 ⁹ /l	0.1	0.1-0.2
	Eos	%	1	1-2
Platelets	Plts	x10 ⁹ /l	220	140-315
Plasma viscosity	PV	mPa	1.44	1.34-1.59
Total Protein	TSP	g/l	54	41-66
Albumin	Alb	g/l	31	25-35
Globulin	Glob	g/l	24	15-36
Alpha 1 globulin	x1 glob	g/l	0.9	0.5-1.5
Alpha 2 globulin	x2 glob	g/l	5.0	4.0-5.6
Beta 1 globulin	x1 glob	g/l	5.1	3.1-7.2
Beta 2 globulin	x2 glob	g/l	3.3	1.3-6.0
Gamma globulin	x glob	g/l	6.5	4.8-10.1
Immunoglobulin G	IgG	g/l	11.7	6.9-18.6
Plasma fibrinogen	Fib	g/l	1.9	0.5-3.9
Serum amyloid A	SAA	mg/l	2.2	0-26
Aspartate amino transferase	AST	iu/l	157	111-206
Creatinine kinase	CK	iu/l	414	165-761
Lactate dehydrogenase	LD	iu/l	860	615-1110
LD isoenzyme 1	LD1	% total LD	5	2-7
LD isoenzyme 2	LD2	% total LD	20	17-24
LD isoenzyme 3	LD3	% total LD	42	36-46
LD isoenzyme 4	LD4	% total LD	28	21-34
LD isoenzyme 5	LD5	% total LD	5	2-10
Gamma glutamyl transferase	GGT	iu/l	21	10-32
Glutamate dehydrogenase	GLDH	iu/l	25	8-43

Serum alkaline phosphatase	SAP	iu/l	3341	2424-4544
Intestinal alkaline phosphatase	IAP	iu/l	824	528-1200
	IAP	% total SAP	23.7	<26
Urea	Urea	mmol/l	5.7	2.9-8.4
Creatinine	Creat	μmol/l	133	97-188
Bromsulphalein half time clearance	BSP	Seconds		
Glucose	Glu	mmol/l	3.1	2.1-4.1
Total bilirubin	TBili	μmol/l	55	16-94
Direct bilirubin	DBili	μmol/l	20	6-34
Bile acids	BACids	μmol/l		0-8.0
Calcium	Ca	mmol/l	2.9	2.7-3.2
Phosphate	PO4	mmol/l	2.0	1.6-2.5
Fractional urinary clearance	PO4	%	0.3	0.02-0.53
Magnesium	Mg	mmol/l	0.8	0.6-1.1
Sodium	Na	mmol/l	135	129-140
Fractional urinary clearance	Na	%		
Potassium	K	mmol/l	4.3	3.8-5.0
Fractional urinary clearance	K	%		
Chloride	Cl	mmol/l	97	90-103
Tri-iodothyronine	T3	nmol/l	8.4	<14
Thyroxine	T4	nmol/l	400	<800
Troponin	cTnI	ng/ml	0.46	0.18-0.79

Референтне вредности код коња старости три године

Test	Abbreviation	Units	Mean	Range
Total erythrocytes	RBC	x1012/l	9.7	8.6-10.5
Packed cell volume	PCV	l/l	0.40	0.35-0.43
Haemoglobin	Hb	g/dl	14.9	13.0-16.1
Mean cell volume	MCV	fl	40.7	39.5-43.0
Mean cell haemoglobin concentration	McHc	g/dl	37.8	36.6-38.8
Mean cell haemoglobin	McH	pg	15.4	14.9-16.2
Total leucocytes	WBC	x109/l	8.2	6.9-9.8
Segmented neutrophils	Segs	x109/l	4.6	3.9-5.2
	Segs	%	56	48-64
Lymphocytes	Lymphs	x109/l	2.8	2.3-3.4
	Lymphs	%	35	28-42
Monocytes	Monos	x109/l	0.36	0.2-0.56
	Monos	%	4	2-6
Eosinophils	Eos	x109/l	0.1	0-0.2
	Eos	%	1	1-2
Platelets	Plts	x109/l	170	127-206
Plasma viscosity	PV	mPa	1.45	1.35-1.55
Total Protein	TSP	g/l	62	58-67
Albumin	Alb	g/l	38	35-40
Globulin	Glob	g/l	25	22-29
Alpha 1 globulin	x1 glob	g/l	1.3	0.9-1.7
Alpha 2 globulin	x2 glob	g/l	6.3	5.1-7.8
Beta 1 globulin	x1 glob	g/l	6.7	4.5-8.0

Beta 2 globulin	x2 glob	g/l	3.3	2.5-5.1
Gamma globulin	x glob	g/l	7.0	5.4-9.6
Plasma fibrinogen	Fib	g/l	1.8	14-2.3
Serum amyloid A	SAA	mg/l	1.3	0-20
Aspartate amino transferase	AST	iu/l	467	289-630
Creatinine kinase	CK	iu/l	390	156-875
Lactate dehydrogenase	LD	iu/l	638	430-883
LD isoenzyme 1	LD1	% total LD	11	6-17
LD isoenzyme 2	LD2	% total LD	24	19-27
LD isoenzyme 3	LD3	% total LD	39	33-43
LD isoenzyme 4	LD4	% total LD	20	16-23
LD isoenzyme 5	LD5	% total LD	6	1-18
Gamma glutamyl transferase	GGT	iu/l	27	13-47
Glutamate dehydrogenase	GLDH	iu/l	7	3-12
Serum alkaline phosphatase	SAP	iu/l	375	277-451
Intestinal alkaline phosphatase	IAP	iu/l	89	65-107
	IAP	% total SAP	22.8	<24
Urea	Urea	mmol/l	5.4	3.9-6.4
Creatinine	Creat	μmol/l	143	118-167
Bromsulphalein half time clearance	BSP	Seconds	168	138-198
Glucose	Glu	mmol/l	4.7	3.4-5.9
Total bilirubin	TBili	μmol/l	26	13-39
Direct bilirubin	DBili	μmol/l	10	4-15
Bile acids	BAcids	μmol/l	5.2	0-8.0
Cholesterol	Chol	mmol/l	2.45	2.0-3.3
Triglycerides	Trigs	mmol/l	1.06	0.26-2.6
Lipase	Lip	mmol/l	42.5	23.8-124.5
Amylase	Amyl	iu/l	8.9	3.3-22.1
Calcium	Ca	mmol/l	3.1	2.9-3.3
Fractional urinary clearance	Ca	%	6.2	2.6-15.5
Phosphate	PO4	mmol/l	1.2	1.0-1.5
Fractional urinary clearance	PO4	%	0.3	0.02-0.53
Magnesium	Mg	mmol/l	0.8	0.6-0.9
Fractional urinary clearance	Mg	%	11.7	3.8-21.9
Copper (serum)	Cu	μmol/l	17.1	13.5-20.3
Sodium	Na	mmol/l	143	130-160
Fractional urinary clearance	Na	%	0.05	0.02-1.0
Potassium	K	mmol/l	3.9	3.4-4.3
Fractional urinary clearance	K	%	32.8	15-65
Chloride	Cl	mmol/l	103	96-108
Fractional urinary clearance	Cl	%	0.78	0.04-1.6
Cortisol	Cort	nmol/l	136	71-240
Fasting Insulin	Ins	μiu/ml	25.5	8.0-47.5
Tri-iodothyronine	T3	nmol/l	1.0	0.48-1.46
Thyroxine	T4	nmol/l	22.7	7.7-42.8
Troponin	cTnI	ng/ml	0.19	0.10-0.36
Selenium	Se	μmol/l	3.5	1.6-5.3

Вредност крвних параметара код лабораторијских мишева

	95%CI srednja vr.	Srednja vrednost	Standardna devijacija	25 percentila	75 percentila	Skewness	Kurtosis	KS test
Eritrociti $\times 10^{12}/\text{mL}$	6,32-6,6	6,46	0,66	6,01	6,83	0,36	0,34	Normalna
HGB g/L	109-113	110,80	10,27	105,00	117,75	0,15	0,66	Normalna
HCT $\times 100\%$	0,33-0,35	0,34	0,03	0,32	0,36	-0,34	-0,02	Normalna
Leukociti $\times 10^9/\text{mL}$	4,08-5,12	4,60	2,36	2,39	5,92	0,39	-0,27	Normalna
Neutrofili $\times 10^9/\text{mL}$	1,44-1,94	1,69	1,16	0,74	2,51	0,98	1,20	Normalna
Limfociti $\times 10^9/\text{mL}$	2,01-2,61	2,31	1,36	1,06	3,51	0,14	-1,09	Normalna
Tromb $\times 10^9/\text{mL}$	779-929	854,22	342,36	614,75	1001,75	0,78	0,12	Normalna
ALT IU/L	31,5-36,9	34,20	12,39	25,00	40,00	0,71	0,50	Normalna
AST IU/L	65,4-74,3	69,86	20,32	58,00	81,00	0,10	1,27	Normalna
LDH IU/L	132-164	149,79	72,50	108,50	178,25	2,33	9,98	Normalna
Urea mmol/L	5,29-5,97	5,63	1,55	4,50	6,50	1,11	1,75	Normalna
Glukoza mmol/L	3,88-4,64	4,26	1,72	2,60	5,50	-0,38	-0,81	Normalna
Kreatinin $\mu\text{mol/L}$	31,8-38,0	34,91	13,97	28,00	42,00	-0,04	0,27	Normalna
Uk.Bil. $\mu\text{mol/L}$	5,97-6,91	6,44	2,14	6,10	7,90	-1,13	0,11	Ne
Albumin g/L	23,9-25,1	24,49	2,68	22,00	27,00	-0,36	-0,89	Normalna
Uk.Proteini g/L	50,4-52,9	51,63	5,67	48,00	54,00	0,74	0,37	Normalna
CK IU/L	128-148	137,65	45,21	108,00	157,00	1,26	1,39	Normalna
Amilaza IU/L	994-1170	1084,30	411,44	743,00	1423,00	0,47	-0,40	Normalna
AG_odnos	0,89-0,98	0,94	0,20	0,80	1,10	0,47	-1,04	Ne
TGC mmol/L	0,95-1,13	1,04	0,41	0,73	1,24	0,48	-0,10	Normalna
Holest. mmol/L	1,46-1,58	1,52	0,28	1,30	1,75	0,57	-0,36	Normalna

Референтне вредности код егзотичних птица

Determination	Af Grey	Amazon	Caique	Cockatiel	Cockatoo	Conure	Eclectus
WBC x 103/ul	5.0-13.6	4.3-12.5	4.2-15.5	3.8-10.7	5.7-13.9	4.0-14.0	5.3-13.1
RBC x 106/ul	3.00-4.20	2.78-3.96	3.14-4.45	3.30-4.93	2.58-3.88	3.33-4.62	2.84-4.00
HCT (%)	40-52	40-52	40-50	40-49	40-50	41-53	40-53
Hets (%)	55-75	55-80	54-81	55-80	55-80	55-75	55-70
Eos (%)	0-2	0-1	0-1	0-2	0-2	0-2	0-1
Baso (%)	0-1	0-1	0-1	0-2	0-1	0-1	0-2
Monos (%)	0-3	0-3	0-2	0-2	0-1	0-2	0-2
Lymphs (%)	25-45	20-45	18-40	20-45	20-45	25-45	30-45

Determination	Jardine's	Lorikeet	Lory	Lovebird	Macaw	Meyer	Pionus	Quaker	Senegal
WBC x 103/ul	4.1-12.6	3.8-14.4	3.8-14.3	4.0-13.0	6.0-16.4	3.8-13.6	3.8-12.3	4.7-13.1	5.0-12.7
RBC x 106/ul	3.03-4.47	2.98-4.87	3.10-4.59	3.15-4.38	2.88-4.15	2.81-4.84	3.00-4.38	3.15-4.48	3.22-4.35
HCT (%)	41-53	41-52	41-53	41-51	40-51	40-52	41-53	41-52	40-53
Hets (%)	55-75	54-73	54-76	55-80	58-78	53-74	50-75	55-80	55-75
Eos (%)	0-1	0-1	0-2	0-1	0-1	0-1	0-2	0-1	0-1
Baso (%)	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	0-2	0-1
Monos (%)	0-2	0-2	0-2	0-3	0-3	0-2	0-2	0-3	0-2
Lymphs (%)	25-45	24-47	24-47	20-45	20-45	19-44	25-45	20-45	25-45

Determination	Af Grey	Amazon	Caique	Cockatiel	Cockatoo	Conure	Eclectus
Alk Phos (U/L)	20-160	15-150	--	20-250	15-255	80-250	150-350
ALT (U/L)	5-12	5-11	--	5-11	6-12	5-13	5-11
AST (U/L)	109-305	141-347	193-399	160-383	117-314	178-307	148-378
Amylase(U/L)	210-530	205-510	--	205-490	200-510	100-450	200-645
BUN (mg/dL)	3-5.4	3.1-5.3	--	2.9-5	3-5.1	2.8-5.4	3-5.5
Ca (mg/dL)	7.7-11.3	8.2-10.9	7.1-11.5	7.3-10.7	8.3-10.8	7.9-10.8	7.9-11.4
Chol (mg/dL)	160-425	180-305	--	140-360	145-355	120-400	130-350
Creat (mg/dL)	0.1-0.4	0.1-0.4	--	0.1-0.4	0.1-0.4	0.1-0.4	0.1-0.4
CO2(mmol/L)	13-25	13-26	--	13-25	14-25	14-25	14-24
CPK (U/L)	228-322	125-345	134-427	58-245	106-305	154-355	118-345
GGT (U/L)	1-10	1-12	--	1-30	1-45	1-15	1-20
Glu (mg/dL)	206-275	221-302	167-366	249-363	214-302	217-323	220-294
LDH (U/L)	145-465	155-425	--	120-455	220-550	120-390	200-425
Lipase (U/L)	35-350	35-225	--	30-280	25-275	30-290	35-275
Phos (mg/dL)	3.2-5.4	3.1-5.5	--	3.2-4.8	2.5-5.5	2-10	2.9-6.5
K (mmol/L)	2.9-4.6	3-4.5	--	2.4-4.6	2.5-4.5	3-4.5	3.5-4.3
Na (mmol/L)	157-165	125-155	--	130-153	130-155	135-149	130-145
TBil (mg/dL)	0-0.1	0-0.1	--	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1
TProt (g/dL)	3.2-5.2	3.0-5.2	2.4-4.6	2.4-4.8	3.0-5.0	2.8-4.6	3.0-5.0
Trig (mg/dL)	45-145	49-190	--	45-200	45-205	50-300	70-410
Uric acid (mg/dL)	2.7-8.8	2.1-8.7	3.4-12.4	2.7-11.1	2.9-11.0	3.0-11.4	2.5-8.7

Determination	Af Grey	Amazon	Caique	Cockatiel	Cockatoo	Conure	Eclectus
Bile Acids (umol/L)	13.7-73.6	10.3-79.3	11.8-56.7	11.7-80.7	10.3-79.1	8.3-85.2	9.7-87.5
T4 (ug/dL)	0.2-1.7	0.1-1.8	0.3-1.3	0.2-1.4	0.2-1.8	0.2-1.7	0.2-1.6
Pre-albumin (g/dL)	0.30-0.92	0.60-1.23	0.33-0.89	0.59-1.24	0.29-0.83	0.39-1.12	0.31-1.18
% Pre-albumin	8.9-22.7	12.7-24.1	13.1-25.2	20.6-37.7	7.5-20.8	13.2-28.0	5.4-25.9
Albumin (g/dL)	1.22-2.51	1.79-2.81	0.96-2.04	0.78-1.75	1.11-2.28	1.01-1.94	1.23-2.26
% Albumin	40.5-56.2	38.6-54.4	33.1-51.6	27.6-41.5	34.4-55.2	30.7-50.4	31.8-47.5
Alpha-1 (g/dL)	0.06-0.20	0.09-0.23	0.05-0.17	0.05-0.32	0.07-0.16	0.07-0.17	0.08-0.19
% Alpha-1	1.7-4.6	2.0-4.0	1.8-4.5	2.0-4.7	2.0-3.8	2.3-4.5	2.0-4.1
Alpha-2 (g/dL)	0.10-0.28	0.20-0.42	0.13-0.38	0.07-0.39	0.09-0.26	0.18-0.43	0.10-0.30
% Alpha-2	2.9-6.1	5.0-11.3	4.2-10.1	2.8-9.1	2.6-6.4	5.7-12.0	2.5-6.1
Beta (g/dL)	0.49-0.88	0.33-0.89	0.34-0.99	0.34-0.81	0.39-0.89	0.30-0.81	0.46-0.89
% Beta	14.4-21.9	7.5-17.2	8.9-23.9	13.5-24.5	12.9-23.2	10.7-22.1	13.6-23.2
Gamma (g/dL)	0.21-0.81	0.21-0.72	0.13-0.50	0.15-0.60	0.18-0.61	0.12-0.55	0.17-0.63
% Gamma	3.0-11.8	5.6-13.8	4.5-13.7	5.2-13.3	5.3-14.7	4.1-12.0	4.4-13.1
A/G ratio	1.02-2.59	1.21-2.69	1.09-2.76	1.01-2.19	1.06-2.54	1.08-2.73	1.09-2.50

Determination	Jardine's	Lorikeet	Lory	Lovebird	Macaw	Meyer	Pionus	Quaker	Senegal
Alk Phos (U/L)	80-156	--	75-155	10-90	20-230	--	80-290	70-300	70-300
ALT (U/L)	5-12	--	5-13	5-13	5-12	--	5-12	5-11	5-11
AST (U/L)	150-278	57-368	71-372	125-377	105-324	137-354	140-359	225-375	183-352
Amylase (U/L)	100-425	--	90-422	90-400	150-550	--	200-500	100-400	190-550
BUN (mg/dL)	2.8-5.6	--	2.7-5.7	2.8-5.5	3-5.6	--	3-5.4	2.9-5.4	2.9-5.4
Ca (mg/dL)	7.0-12.8	5.5-11.6	5.6-10.3	7.2-10.6	8.2-10.9	6.0-9.8	7.8-10.8	7.5-10.0	7.6-10.7
Chol (mg/dL)	100-300	--	95-295	95-335	100-390	--	130-295	100-295	130-340
Creat (mg/dL)	0.1-0.4	--	0.1-0.4	0.1-0.4	0.1-0.5	--	0.1-0.4	0.1-0.4	0.1-0.4
CO2 (mmol/L)	14-25	--	14-26	14-25	14-25	--	14-24	14-26	14-25
CPK (U/L)	110-310	144-426	65-414	58-337	101-300	114-369	169-354	110-311	100-340
GGT (U/L)	1-15	--	1-16	2.5-18	1-30	--	1-18	1-15	1-15
Glu (mg/dL)	199-348	121-384	180-397	246-381	228-325	117-342	228-312	229-318	220-284
LDH (U/L)	119-335	--	115-330	105-355	70-350	--	125-380	120-300	150-350
Lipase (U/L)	30-255	--	25-250	30-320	30-250	--	30-250	25-225	35-250
Phos (mg/dL)	2-6.8	--	2-6.5	2.8-4.9	2-12	--	2.9-6.6	2.9-6.5	2.5-9.5
Potassium (mmol/L)	3-4.5	--	3-4.4	2.1-4.8	2-5	--	3.5-4.6	2.8-4.6	3-5
Sodium (mmol/L)	133-153	--	130-155	125-155	140-165	--	145-155	140-155	130-155
Total Bili (mg/dL)	0-0.1	--	0-0.1	0-0.1	0-0.1	--	0-0.1	0-0.1	0-0.1
Total Protein (g/dL)	2.8-4	2.4-4.6	2.4-5.1	2.4-3.6	2.6-5.0	2.4-4.6	3.6-5.2	3.0-4.8	2.8-4.2
Trig (mg/dL)	60-130	--	65-140	45-200	60-135	--	60-225	50-200	45-145
Uric acid (mg/dL)	2.5-12	2.3-11.9	2.9-11.6	5.8-11.5	2.9-10.6	3.5-9.5	2.0-7.9	3.5-8.7	2.5-7.8

Determination	Jardine's	Lorikeet	Lory	Lovebird	Macaw	Meyer	Pionus	Quaker	Senegal
Bile Acids (umol/L)	10.2-61.7	9.5-71.2	9.3-80.2	8.5-77.1	7.6-60.0	11.5-76.9	6.1-62.7	9.6-83.2	13.8-87.4
T4 (ug/dL)	--	--	--	0.2-1.7	0.2-1.9	0.2-1.5	0.2—1.5	0.2-1.9	0.2-1.2
Pre-albumin (g/dL)	0.13-0.42	0.32-1.36	0.30-1.33	0.37-0.68	0.24-0.80	0.28-1.07	0.62-1.15	0.91-2.46	0.55-0.99
% Prealbumin	3.8-12.7	16.2-33.4	11.9-34.7	13.3-21.5	6.9-19.9	12.9-29.0	15.1-25.3	28.1-36.3	17.5-26.3
Albumin (g/dL)	1.17-1.92	0.91-2.12	0.93-2.29	0.98-1.68	1.12-2.43	1.02-2.22	1.52-2.37	0.92-2.48	1.19-1.81
% albumin	44.3-60.9	33.8-53.9	39.0-51.2	36.3-48.5	35.9-55.4	37.3-57.6	38.1-50.2	25.4-39.4	38.8-48.2
Alpha-1 (g/dL)	0.07-0.16	0.02-0.18	0.03-0.18	0.08-0.17	0.07-0.18	0.03-0.18	0.08-0.23	0.08-0.21	0.08-0.15
% alpha 1	2.3-4.8	1.5-3.9	1.5-4.6	2.7-4.9	2.1-4.6	1.5-5.0	2.0-3.8	2.5-4.1	2.3-4.0
Alpha-2 (g/dL)	0.08-0.22	0.04-0.16	0.03-0.25	0.12-0.37	0.15-0.45	0.06-0.26	0.11-0.36	0.22-0.45	0.11-0.25
% alpha 2	3.2-6.2	1.6-5.4	1.5-7.9	4.3-12.1	4.6-10.3	2.5-7.1	2.8-7.5	5.9-10.8	3.3-6.4
Beta (g/dL)	0.38-0.84	0.28-0.96	0.38-0.98	0.33-0.78	0.34-0.85	0.26-0.84	0.40-0.95	0.37-0.79	0.32-0.87
% beta	13.1-22.7	11.5-24.5	10.9-21.6	12.4-24.2	11.4-21.3	10.9-21.7	12.8-23.1	11.0-18.9	12.5-23.2
Gamma (g/dL)	0.12-0.47	0.12-0.58	0.20-0.48	0.12-0.38	0.15-0.58	0.16-0.48	0.23-0.69	0.19-0.77	0.15-0.45
% gamma	4.2-12.8	3.8-12.8	4.9-11.3	4.5-9.1	4.9-13.5	3.9-10.6	5.6-13.6	5.9-13.7	4.6-10.7
A/G ratio	1.32-2.56	1.07-3.38	1.08-3.01	1.06-2.09	1.08-2.55	1.34-2.73	1.11-2.65	1.07-2.38	1.41-2.66

Референтне вредности код неких рептила

	<i>Boa Constrictor</i>	<i>Python spp.</i>	<i>Gekko gecko</i>	<i>Lampropeltist riangulum</i>	<i>Pogona vitticeps</i>	<i>Iguana iguana</i>	<i>Terrapene carolina</i>	<i>Ambystoma californiens e</i>
PCV (%)	24-40	25-40	25-34	8-48	17-28	25-38	7-35	33-64
RBC (10 ⁶ /mL)	1.0-2.5	1.0-2.5	0.63-0.74	0.5-2	0.8-1.8	1-1,9	0.09-1	0-1,04
Hgb (g/dL)	3.3-15.3	–	–	6.9-11.9	–	6-10	5,1	6,92-16,44
MCV (fL)	159-625	–	432-492	135-615	–	165-305	229-1000	26-7349
MCH (pg)	85-208	–	–	89-164	–	48-78	102	0-113,2
MCHC (g/dL)	21-42	–	–	29-45	–	20-38	26-29	113.65– 1,773.46
WBC(10 ³ /mL)	4-10	6-12	4-20	1.2-39	5.9-14.3	3-10	1.7-16	0-1.29
Heterohp(%)	20-65	20-80	–	–	–	0.35-5.2	11	0-58
Lympho (%)	10-6	10-60	–	–	54-76	0.5-5.5	56	17-81
Azuroph(%)	0-5.8	-	–	–	–	0-0.1	–	–
Mono (%)	0-3	0-3	–	–	0-8	0-1.7	9,4	0-6
Eosino (%)	0-3	0-3	–	–	–	0-0.3	–	0-47
Baso (%)	0-20	0-10	–	–	–	0-0.5	8	0-14
AP (IU/L)	242-652	–	54	70-168	15-447	50-290	29-102	–
ALT (IU/L)	0-20	–	5	0-17	4-20	5-68	2-14	–
AST (IU/L)	5-35	5-30	9-146	0-102	0-92	5-52	2-620	285-1,585
Bilirubin, total (mg/dL)	00.2-0.4	–	0.5	0.1-0.9	0-3.7	0-4.9	0.1-1	–
BUN (mg/dL)	<1-10	<1-10	–	2-14	3-4	0-11	20-102	–
Calcium (mg/dL)	10-22	10-22	17-18	12-18	18-13	8.8-14.0	6.5-26.4	4.3-13.2
Chloride (mEq/L)	14.1-23.7	–	119	109-137	107-163	117-122	101-112	–
Cholesterol (mg/dL)	107-124	–	–	154-822	160-900	107-333	65-496	–
Creatine kinase (IU/L)	53-138	–	117	92-332	59-7000	73-666	37-898	0-293
Creatinine (mg/dL)	<0.1-0.3	<0.1-0.3	–	0.2-1.1	0-0.6	0.1-1.3	0.4	–
Glucose (mg/dL)	10-60	10-60	105-173	15-124	211-261	169-288	33-153	19-42
LDH (IU/L)	30-300	40-300	189	18-2807	35-628	36-3861	111-313	–
Magnesium (mEq/L)	–	–	–	–	–	2.4-4	3-5	–
Phosphorus (mg/dL)	2.6-4.9	–	2.8-7.7	2.9-25	2.7-15.1	4-6	1.6-8.2	2.4-9.5
Potassium (mEq/L)	3.0-5.7	3.0-5.7	–	2.2-9.7	1.3-6.3	1.3-3.0	3-9.7	–
Protein, total (g/dL)	4.6-8.0	5-8	–	3.8-11.6	2.0-2.7	5.0-7.8	2.7-7.5	1.2-4.8
Albumin (g/dL)	1.9-5.3	–	2-7	1.2-3	1,3-4.6	2.1-2.8	1.2-3.2	0.9-1.5
Globulin (g/dL)	2.2-6.9	–	–	–	1-4.4	2.5-4.3	2.5-4.7	0.3-3.1
Sodium (mEq/L)	130-152	130-152	158	157-178	137-186	158-183	138-149	–
Thyroxine (mg/dL)	–	–	–	–	–	2.97-4.65	–	–
Uric acid (mg/dL)	1.2-5.8	1.2-5.6	1.4-12.2	2.1-35.6	2.9-10.0	1.2-2.4	0.5-3.1	–
Triglycerides (mg/dL)	–	–	–	–	93-459	53-691	–	–

7.БИОЛОШКА ВАРИЈАБИЛНОСТ КРВНИХ ПАРАМЕТАРА ЖИВОТИЊА И РЕФЕРЕНТНЕ ВРЕДНОСТИ ЗАСНОВАНЕ НА ЈЕДИНКИ

Биолошка варијација се описује као насумичне промене анализата у односу на основну вредност код појединаца или група. Ова варијација обухвата **аналитичку варијабилност (CVa)**, **интраиндивидуалну варијабилност (CVi)** и **интериндивидуалну варијабилност или варијабилност групе односно популације (CVg)**, које се обично мере коефицијентима варијације (CV). Коефицијент варијације је статистичка мера која приказује колико су резултати из узорка распршени у односу на аритметичку средину популације, и рачуна се као однос стандардне девијације и аритметичке средине: $CV = 100 \times (\text{стандардна девијација} / \text{аритметичка средина})$. Аналитичка варијабилност (Va), односно насумична грешка, повезана је са лабораторијским резултатима и зависи од методологије и типа анализатора. Утврђује се **поновљеним мерењима истог узорка**, при чему се израчунава аналитички коефицијент варијације на основу аритметичке средине и стандардне девијације. Мањи коефицијент аналитичке варијабилности указује на већу прецизност резултата. Обично је аналитичка варијабилност знатно мања од интра- и интериндивидуалне варијабилности захваљујући високом квалитету контроле у лабораторијама. Интраиндивидуалне варијације су промене унутар једне јединке током различитих процена, док су интериндивидуалне варијације разлике између различитих јединки. Ове варијације се мере интраиндивидуалним коефицијентом варијације (CVi) и интериндивидуалним коефицијентом варијације (CVg).

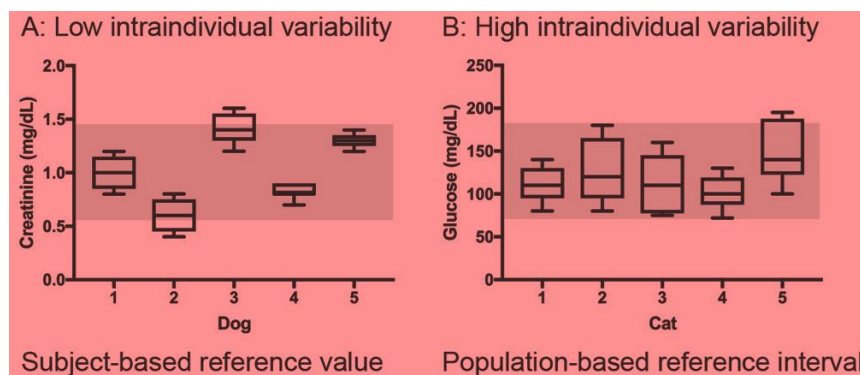
Однос између индивидуалне и групне биолошке варијације мери **се индексом индивидуалности (IoI)** за одређени аналит. Овај индекс помаже да се утврди да ли је боље користити референтне интервале засноване на популацији или на субјекту, чиме се процењује корисност тих интервала. Већина анализата, попут калцијума, холестерола и креатинина, има низак индекс индивидуалности, што указује на то да је биолошка варијација унутар јединке мања него унутар популације. У таквим случајевима, референтни интервали засновани на популацији можда неће бити од велике помоћи у процени нормалности резултата, па би било корисније поредити резултате са интервалима утврђеним за конкретну јединку. Индекс индивидуалности, који се израчунава на основу аналитичког, интраиндивидуалног и интериндивидуалног коефицијента варијације, даје смернице за употребу референтних интервала. Ако је интраиндивидуална биолошка варијација већа од интериндивидуалне ($IoI \geq 1,4$), популацијски референтни интервали ће бити најкориснији. С друге стране, ако је интраиндивидуална варијација мања ($IoI \leq 0,6$), боље је користити референтне интервале засноване на субјекту. Низак индекс индивидуалности указује на високу индивидуалност, где варијабилност вредности унутар јединке заузима мали део референтног интервала. Висок индекс индивидуалности, насупрот томе, указује на то да су дисперзије вредности унутар јединки сличне дисперзијама у популацији. Вредности индекса индивидуалности и њихова интерпретација су следећи: $<0,6$ (низак индекс индивидуалности)- користити референтне интервале базиране на субјекту или референтне вредности промене (RCV); $0,6-1,4$ (еквивокални индекс индивидуалности) - користити популацијске референтне вредности

уз опрез. На жалост, највећи број резултата тестова потпада у ову категорију која није од превелике помоћи, >1.4 (висок индекс индивидуалности) - користити популацијске референтне вредности. Формула на основу које се уобичајено израчунавају индекси индивидуалности може се представити следећом једначином у којој се у бројиоцу налазе CV_i који представља коефицијент интраиндивидуалне варијабилности и CV_a односно коефицијент аналитичке варијабилности, а у имениоцу се налази CV_g односно коефицијент интериндивидуалне варијабилности. Индекси индивидуалности се обично израчунавају помоћу формуле која се може представити на следећи начин: $IoI = (\sqrt{CV_i^2 + CV_a^2}) / CV_g$, тако да се бројиоцу се налазе CV_i , који представља коефицијент интраиндивидуалне варијабилности, и CV_a , односно коефицијент аналитичке варијабилности. У имениоцу се налази CV_g , што је коефицијент интериндивидуалне варијабилности. Поред овога могуће је коришћење и инверзне формуле где је $IoI = CV_g / (\sqrt{CV_i^2 + CV_a^2})$, а добијена вредност се тумаче на следећи начин: $IoI \geq 1,67$ указују на то да су у таквим случајевима референтни интервали засновани на субјекту од веће користи у односу на референтне интервале засноване на популацији, IoI у распону $0,7 - 1,67$ спадају у еквивокалне односно у несигурне, тако да се у овим случајевима базира на популацијске референтне интервале уз опрез, а ако је $IoI \leq 0,7$ треба користити популацијске референтне интервале. Дакле, када је индекс индивидуалности по уобичајеној формули нижи од $0,6$ а по инверзираној формули виши од $1,67$ предлаже се коришћење референтне вредности промене идносно индивидуалне на јединци базиране референтне вредности.

Ако је биолошка варијација унутар једне јединке већа него међу животињама у популацији, референтни интервали засновани на популацији су одговарајући. Међутим, ако је варијација унутар јединке мања, то значи да ти интервали можда нису најбољи за откривање абнормалних резултата теста. У таквим случајевима, праћење промене у резултату тестирања у односу на утврђену основну вредност може бити корисније за идентификовање абнормалности узрокованих болешћу. Ова промена, позната као референтна промена вредности или критична разлика, води до референтних вредности заснованих на субјекту. Ако се резултат теста промени више од те референтне промене, то може указивати на стварну промену уместо случајне варијације. Међутим, промене у аналитима могу бити узроковане преаналитичким варијаблама, попут расе, а не нужно болешћу, па је важно то разјаснити. Постоје истраживања која се баве референтним вредностима заснованим на субјекту и променама вредности за различите тестове. Та истраживања показују да резултати тестова често падају у „сиви појас“, где није лако одлучити између референтних интервала заснованих на популацији или субјекту. Такође, као и код популацијских интервала, и овде фактори попут животиња, инструмената и метода могу утицати на добијене вредности, па објављени подаци треба да се користе као водич у интерпретацији. Разлике у вредностима референтне промене могу се приписати различитим методама истраживања, укључујући инструменте, реагенсе и број животиња, као и учесталост узимања узорка.

Варијабилност заснована на субјекту (интраиндивидуална) у поређењу са варијабилношћу заснованом на популацији (интериндивидуална) у резултатима лабораторијских тестова анализирана је узимањем узорка крви од 5 паса и 5 мачака током 8 различитих дана, како би се мерили креатинин и глукоза. Направљени су бох-дијаграми за сваког пса, приказујући медијане, минималне и максималне вредности, док је сиво сенчено подручје представљало референтни интервал заснован на популацији за сваки тест. За креатинин, **варијација унутар једног пса је мања од варијације између паса,**

што сугерише да су референтне вредности засноване на субјекту одговарајуће. С друге стране, за глукозу, варијација унутар сваке мачке је једнака или већа од варијације између мачака, што указује на то да су популацијски референтни интервали прикладни. Такође, примећено је да су неки резултати код животиња понекад изнад или испод референтног интервала. Ова варијација одражава комбинацију природне биолошке и аналитичке варијације.



Ниска интраиндивидуална варијабилност подразумева коришћење референтне вредности засноване на субјекту, док висока интраиндивидуална варијабилност подразумева коришћење уобичајених популационих референтних вредности (<https://eclinpath.com/test-basics/reference-intervals/print-18/>)

Метода која се користи за утврђивање да ли је разлика између две узастопне анализе значајна и биолошки релевантна јесте израчунавање **RCV вредности (Reference Change Value)**, односно **критичне разлике**. Ова метода узима у обзир факторе повезане са лабораторијским активностима (преаналитичке и аналитичке грешке) као и нормалну интраиндивидуалну биолошку варијацију. RCV дефинише проценат промене који мора бити премашен да би се утврдила значајна разлика између два узастопна мерења. RCV има опсег вредности са доњом и горњом границом; промене које падају изван овог опсега се сматрају значајним, а не само резултатима физиолошких варијација или аналитичке непрецизности. Дакле RCV представља дозвољену разлику између два узастопна мерења, а уколико је добијена разлика изнад RCV вредности можемо сматрати да је код испитиване јединке дошло до значајне промене у вредности крвног параметра, без обзира да ли је он превазишао или не уобичајено коришћене референтне вредности базиране на популацији. RCV даје објективну предност интерпретацији лабораторијског налаза пацијента када је доступан претходни налаз. Поред наведеног постоје и базе података које укључују резултате истраживања различитих лабораторија које су утврђивале CVa, CVi и CVg као и RCV. RCV је добар и користан показатељ јер укључује податке о CVa и CVi, па тако у обзир узима биолошке интраиндивидуалне варијабилности и аналитичке варијабилности методе. Веома је значајно за једну лабораторију да CVa чини ½ CVi или мање како би употреба RCV била реална. Односно лабораторија мора имати одговарајућу прецизност. Формула за израчунавање RCV је следећа:

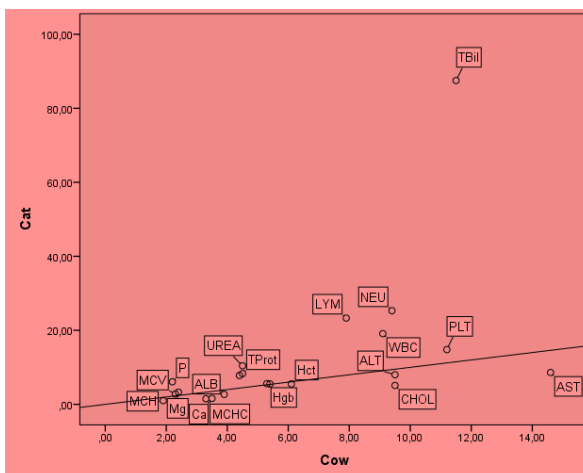
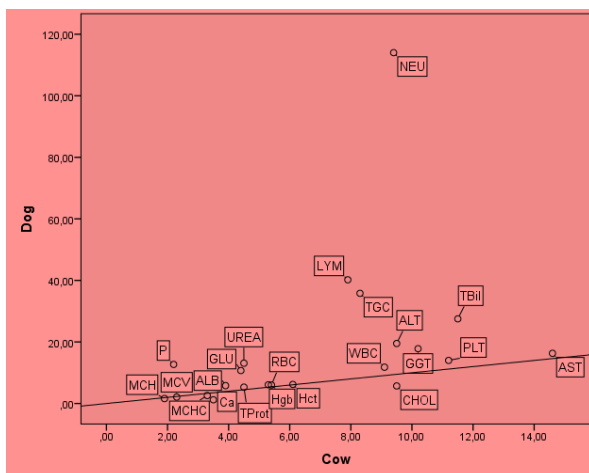
$$RCV = Z \times \sqrt{2} \times \sqrt{CV_A^2 + CV_I^2}$$

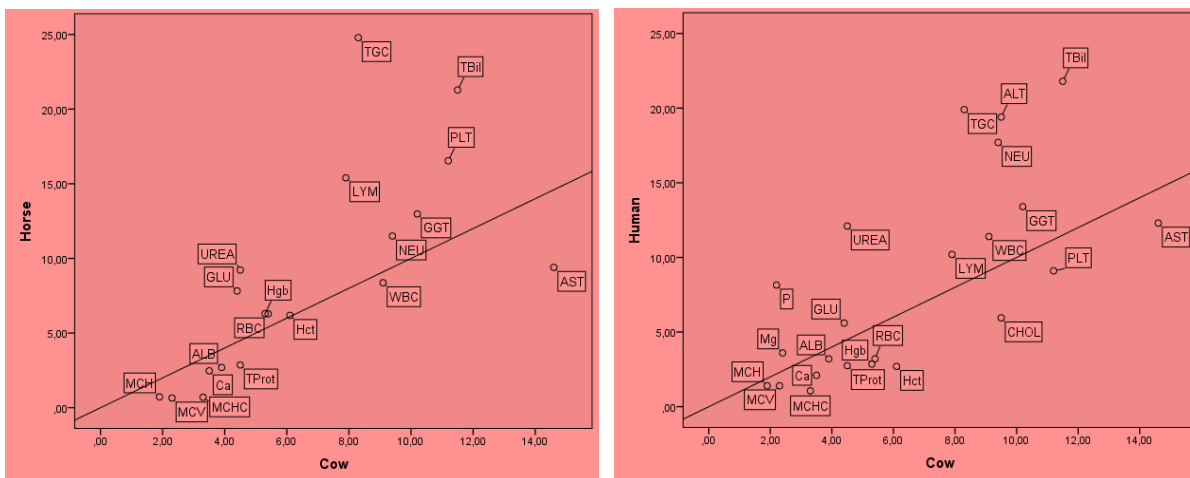
тако да је Z представља одговарајући број стандардних девијација заснованих на жељеној вероватноћи (за двосмерне промене 1.96 = 95% и 2.58 = 99%), $\sqrt{2}$ указује на то да

процењујемо промену која се јавља између два резултата у серији, CVa је коефицијент аналитичке варијабилности и CVi коефицијент интраиндивидуалне варијабилности.

Референтне вредности засноване на субјекту често су занемарене у ветеринарској медицине. Они представљају лонгитудиналне податке, док стандардне референтне вредности засноване на популацији користе пресечне податке. Ове субјектне вредности нуде увид у биолошку и аналитичку варијацију. Биолошка варијација се односи на насумичне промене анализата око хомеостатске тачке. Ови подаци могу помоћи у постављању аналитичких циљева, процени корисности популационих референтних интервала, раздвајању референтних вредности и евалуацији значаја промена у серијским резултатима. **Да би се прикупили ови подаци, обично се узима узорак од малог броја јединки током кратког временског периода.** С обзиром на потешкоће у добијању узорака од већег броја здравих јединки за многе ветеринарске врсте, посебно егзотичне, референтни интервали засновани на субјекту представљају практичну алтернативу за дијагностичаре. Такође, за већину биохемијских анализата, као и многе хемостатске варијабле, референтне вредности засноване на популацији мање су осетљиве у откривању патолошких промена код појединаца у поређењу са онима заснованим на субјекту.

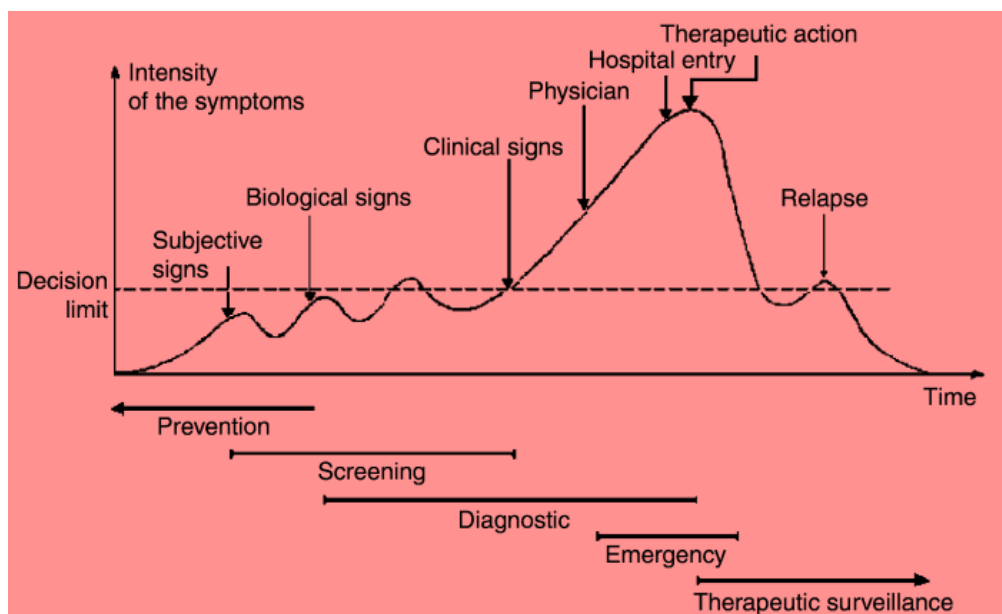
Познавање CVi је веома корисно, јер је у питању показатељ варијабилности који је изражен у релативним мерама, па се може вршити поређење нивоа варијабилности између различитих јединки исте врсте, али и различитих врста животиња. У једном огледу је испитана веза између вредности CVi код крва у раној лактацији са истим вредностима код паса, мачака, коња и људи, на основу података из научних радова и познатих светских база. То је урађено тако што се на X осу нанешени вредности CVi једне врсте, а на Y осу вредности CVi друге врсте и у сам графикон су унете вредности за сваки параметар посебно. Резултатима је показана добра корелација између CVi вредности за различите лабораторијске параметре код крава и код других врста. Ипак, анализирајући линије идентитета кроз графиконе, може се закључити да CVi вредности које се добијамо код крава у раној лактацији су специфичне, јер одступају од CVi вредности других животињских врста.





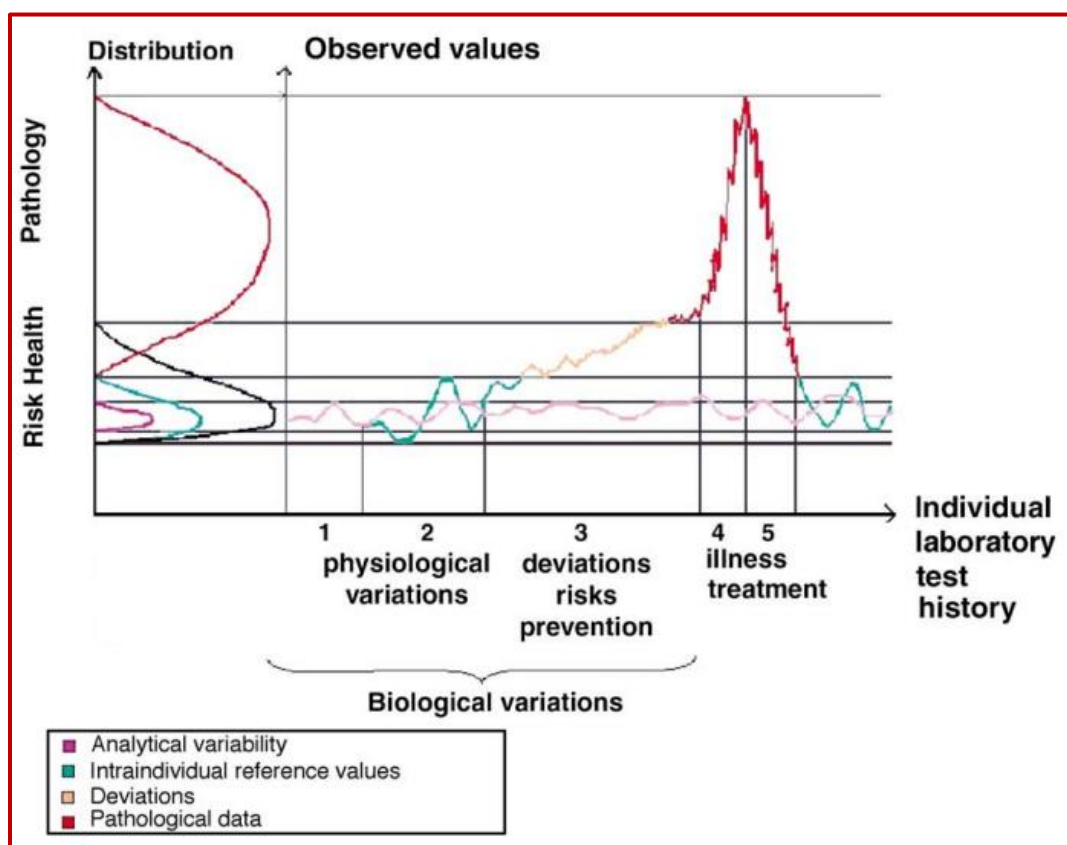
Веза између CVi код краве и пса, мачке, коња и човека за зарличите крвне параметре. Одступање крва и других врста за сваки појединачни параметар представљен у функцији линије идентитета (цела линија) (ориг.)

Познавање везе између референтног опсега, варијабилности и концентрације параметара је од великог значаја како бисмо могли да одвојимо здраве јединке и њихове варијације од оболелих јединки. Вредност анализата код неке јединке може бити у оквиру референтне вредности или референтне вредности промене, а варијабилност је последица биолошких особина јединки. У случају обољења долази до превазилажења опсега референтних вредности па вредност анализа даље расте или опада, а после терапије се враћа ка почетним референтним нивоима. У случају релапса болести опет ће доћи до одступања вредности измерених анализата.



Веза између референтног опсега, варијабилности и концентрације параметара
(<https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.134>)

Варирање крвних параметара у оквиру физиолошких варијација подразумевају аналитичку варијабилности и биолошку варијабилност. Када је биолошка варијабилност толико висока што занли да долази до значајног одступања вредности параметара тада ће се јавити здравствени ризик по ту јединку, а даље одступање вредности значи да се развија одређена болести која се мора лечити све дотле док се параметри не врате у своје биолошке опсеге. Дистрибуција фреквенције аналитичке и биолошке вредности параметара здравих јединки не би требала да се преклапа са дистрибуцијом вредности код оболелих јединки. Међутим, када дође до значајног одступања параметара и девијације биолошких вредности, онда се јавља и здравствени ризик, па се тако добијена крива преклапа са кривом вредности оболелих јединки. Тада је потребно извршити детерминацију између здравих и оболелих јединки применом ROC анализе или неке друге како би се открило која је то концентрација изнад или испод које биолошка варијабилност и појачана одступања значе развој болести.



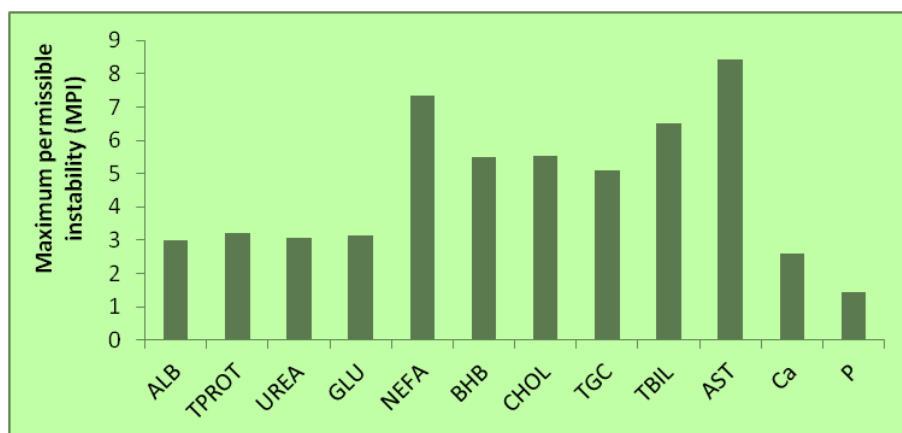
Врсте варијабилности индивидуалних лабораторијских тестова
<https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.134>

8. ПРОЦЕНА СТАБИЛНОСТИ АНАЛИТА У УЗОРЦИМА КРВИ

Вредности лабораторијских параметара зависе од различитих преаналитичких, аналитичких и постаналитичких фактора. Најважнији преаналитички фактори су време и температура транспорта узорка, хемолиза, вrsa антикоагуланса и запремина узорка. Сви ови фактори могу значајно утицати на концентрацију испитаних метаболита доводећи до лажног повећања или смањења њихове вредности. Утицај преаналитичких фактора на варирање вредности метаболичких параметара код различитих животињских врста и човека је добро познат, а дате су и препоруке за смањење преаналитичке грешке и уједначавање преаналитичких активности за фармске животиње. Преаналитички фактори могу довести до смањене стабилности анализата у узорку, што мења њихову концентрацију. Стабилност биохемијског анализата дефинише се као способност узорка / материјала узорка да задржи своје особине током времена. Губитак стабилности утиче на време чувања и манипулације узорком, што одређује критеријуме за његову прихватљивост или одбацивање. Два индикатора стабилности су граница стабилности и максимална дозвољена нестабилност. Лимит стабилности (SL) дефинише се као временски период у којем варијација особине не прелази **максималну дозвољену нестабилност (MPI)**. Губитак стабилности процењује се упоређивањем мерних вредности два узорка добијена од истог пацијента и анализирана у различитим временским тачкама – основном времену/узорку и тестном времену/узорку. Разлике се изражавају коришћењем **процентуалне девијације (PD%)**. PD% је разлика између измерених концентрација у оптималним условима (узорак у основи; t_0 , просек поновљених мерења) и њихових концентрација када су чуване током максималног дозвољеног времена чувања (тест узорак; t_x , просек поновљених мерења). Разлика се претвара у %PD у односу на основну вредност: $PD\% = ((t_x - t_0) / t_0) \times 100$. MPI се израчунава као $MPI = 0.5 \times (CV_a + CV_i)$. $PD\% < MPI$ за све испитанике указује на то да није дошло до значајног губитка стабилности унутар проучаваног времена чувања. $PD\% \geq MPI$ код неких испитаника указује на то да је дошло до значајног губитка стабилности унутар проучаваног времена чувања. Потенцијални клинички значај промене вредности анализата биће утврђен поређењем вредности PD% и RCV. Потенцијални клинички значај постоји ако је $PD\% > RCV$; у том случају, одступање вредности може бити клинички значајно.

Биохемијски параметри – Анализе су вршене на узорцима пореклом од говеда. MPI је имала вредност у распону од 1,55 до 8,4. Аналити из метаболичког профила који су имали нижу вредности MPI (1,51-3,22) били су АЛБ, ТПРОТ, УРЕА, ГЛУ, Са и Р. Више вредности МПИ (5,1-8,3) нађене за НЕФА, БХБ, ХОЛ, ТГЦ, ТБИЛ, АСТ. Стабилност анализата из метаболичког профила код крава приказана је у табели и на сликама напред. У табели је приказана измерена вредност метаболита у интервалу поверења од 95% (95%CI). У табели се види вредност линеарног регресионог параметра b који указује на интензитет промене вредности PD% у јединици времена (Линеар b PD%). Што су узорци стабилнији вредност овог параметра је нижа. За већину параметара можемо закључити да им се PD% брже мењао у условима чувања на +4°C у односу на режим од -20°C. АЛБ је био стабилан 6 дана на +4°C односно 6 месеци на -20°C без обзира на дужину транспорта до лабораторије, уколико у узорцима није утврђено постојање негативних преаналитичких

фактора. Ако је узорак био хемолозиран, мале запремине или је транспортован на амбијенталним температурама до обраде у лабораторији АЛБ је био стабилан 4 или 5 дана на $+4^{\circ}\text{C}$, односно током 5 месеци на -20°C . ТПРОТ су били стабилни у узорку у испитиваном периоду на оба температурна режима. УРЕА је стабилна до 6 дана уколико је адекватно транспортована, док пролонгирани транспорт (4-8 часова) и хемолиза узорка смањују стабилност урее, која је била стабилна 4 дана на $+4^{\circ}\text{C}$. Стабилност после замрзавања је била скраћена и износила је до 5 месеци уколико је постојао преаналитички проблем као што је мала запремина узорка или транспорт на амбијенталној температури до лабораторије. За разлику од АЛБ и ТПРОТ чије вредности су опадале током времена, вредност УРЕА је расла током испитивања стабилности. Стабилност ГЛУ је била смањена у свим случајевима, осим када је постојао кратак транспорт до лабораторије у идеалним условима. ГЛУ је у фрижидеру ($+4^{\circ}\text{C}$) била стабилна 4 дана код пролонгираног транспорта, 3 дана код постојања хемолизе или смањене запремине узорка и 2 дана уколико је транспортована до лабораторије на амбијенталној температури. ГЛУ у приликом замрзавања (-20°C) је била стабилна 4 до 5 месеци у зависности од групе узорака. Вредност глукозе је опадала током времена. НЕФА је била стабилна само у случају брзог транспорта. Код пролонгираног транспорта НЕФА је на $+4^{\circ}\text{C}$ била стабилна 4 или 3 дана, у случају хемолизе 3 дана, а 2 дана у случају узорка мале запремине и у случају када је узорак транспортован у лабораторију на амбијенталној температури. Овај аналит је био стабилан 6 месеци на -20°C . Вредност НЕФА је расла током времена. БХБ је био стабилан 6 дана на $+4^{\circ}\text{C}$ односно 6 месеци на -20°C . Вредност БХБ је расла током времена. ХОЛ је био стабилан 6 дана на $+4^{\circ}\text{C}$, а у условима чувања у замрзивачу (-20°C) био је стабилан 5 месеци без обзира на преаналитичке факторе. ТГЦ је био стабилан 6 дана на $+4^{\circ}\text{C}$, а у условима чувања у замрзивачу (-20°C) био је стабилан 4 месеца без обзира на преаналитичке факторе. У зависности од групе током теста стабилности вредности ХОЛ и ТГЦ су расле или опадале. Приликом чувања у замрзивачу у првим месецима је постојао пораст ХОЛ, да би потом дошло до опадања у узорцима који су дуго транспортовани, који су транспортовани на амбијенталној температури и који су били хемолизирани. ТБИЛ је био стабилан у свим временима испитивања на оба температурна режима. Међутим, ако је постојала хемолиза у узорку ТБИЛ је био стабилан до 5 месеци на -20°C . АСТ је био стабилан 6 дана на $+4^{\circ}\text{C}$, али је пролонгирано чување на -20°C смањило стабилност овог анализа, па је он био стабилан током 5 месеци. Вредност АСТ је опадала током времена. Са је био стабилан 6 дана на $+4^{\circ}\text{C}$ односно 6 месеци на -20°C . Стабилност Р је била ненауреша у оквиру 4 или 5 дана, односно у оквиру 2 дана уколико је постојао пролонгирани транспорт или хемолиза узорка. Варирања код параметара као што су БХБ, НЕФА, ТБИЛ, АСТ и Са су показала потенцијални клинички значај. У условима чувања на $+4^{\circ}\text{C}$ клинички значајна варирања у барем једном моменту мерења утврђена су за АСТ (код 7,5% узорака), за БХБ (код 6,1% узорака), НЕФА (код 9,9% узорака) и за ТБИЛ (код 7% узорака). Приликом оцене стабилности на температури замрзивача од -20°C од 0 до 1,3% узорака показује варирања која имају потенцијални клинички значај за наведена четири аналита.

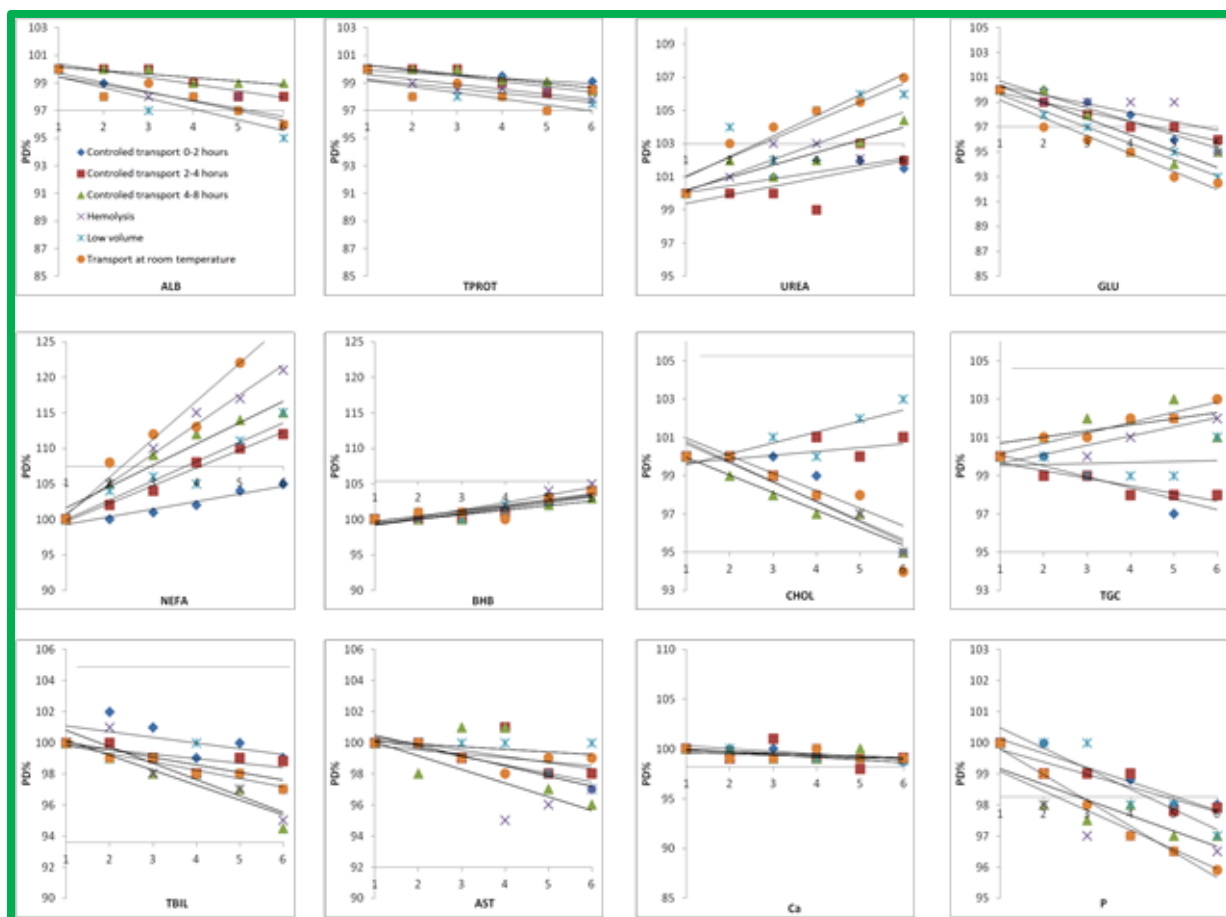


MPI за одабране анализе код крава (ориг.)

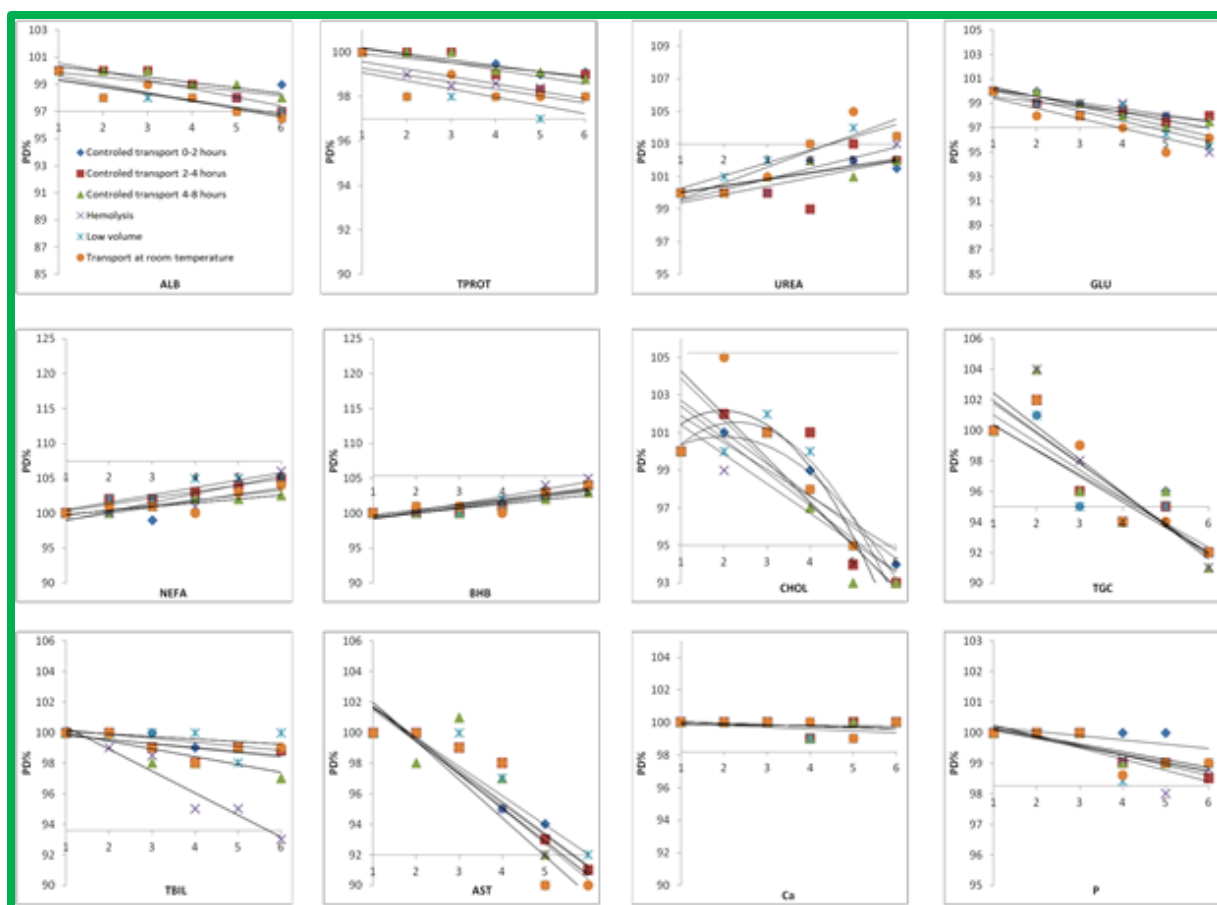
Табела. Концентрација анализа, промена PD% током времена (линеар b PD%) и лимит стабилности (SL) за параметре из серума који је држан на +4°C и -20°C.

	Vrednost 95CI	Čuvanje	Parametar stabilnosti	0-4	4-8	Preko 8	Hemoliza	1/3	Temp
ALB (g/L)	27,2- 39,4	+4°C	Linear b PD%	-0,22	-0,23	-0,5	-0,77	-0,72	-0,65
			SL (day)	>6	>6	>6	4,01	4,99	4,99
		-20°C	Linear b PD%	-0,19	-0,18	-0,16	-0,55	-0,51	-0,52
			SL (month)	>6	>6	>6	5,51	5,53	5,54
TPROT (g/L)	67,5- 84,7	+4°C	Linear b PD%	-0,2	-0,21	-0,22	-0,33	-0,45	-0,36
			SL (day)	>6	>6	>6	>6	5,98	>6
		-20°C	Linear b PD%	-0,21	-0,20	-0,24	-0,3	-0,32	-0,39
			SL (month)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
UREA (mmol/L)	2,13- 9,48	+4°C	Linear b PD%	0,50	0,52	0,76	0,95	1,21	1,25
			SL (day)	>6	>6	3,94	3,19	2,48	2,4h
		-20°C	Linear b PD%	0,38	0,36	0,37	0,37	0,78	0,79
			SL (month)	>6	>6	>6	>6	4,84	4,84
GLU (mmol/L)	1,85- 3,48	+4°C	Linear b PD%	-0,71	-1,08	-7,8	-1,3	-1,35	-1,44
			SL (day)	5,65	4,5h	4,52	3,51	3,02	2,5
		-20°C	Linear b PD%	-0,74	-0,75	-0,8	-0,82	-0,83	-0,83
			SL (month)	>6	5,9	5,9	4,5	5,2	4
NEFA (mmol/L)	0,35- 1,17	+4°C	Linear b PD%	1,08	2,25	2,33	4,21	4,44	5,02
			SL (day)	>6	4,21	3,95	3	2,6	2,3
		-20°C	Linear b PD%	0,91	0,93	0,95	0,9	0,92	0,95
			SL (month)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
BHB (mmol/L)	0,25- 1,33	+4°C	Linear b PD%	0,68	0,68	0,69	0,7	0,7	0,69
			SL (day)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
		-20°C	Linear b PD%	0,69	0,7	0,71	0,73	0,7	0,98
			SL (month)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
CHOL (mmol/L)	1,85- 6,92	+4°C	Linear b PD%	-0,56	-0,6	0,35	0,48	-0,61	-0,57
			SL (day)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
		-20°C	Linear b PD%	-1,51	-1,52	-1,49	-1,56	-1,5	-1,47
			SL (month)	5,9	5,3	5,6	5,1	5,5	5,8

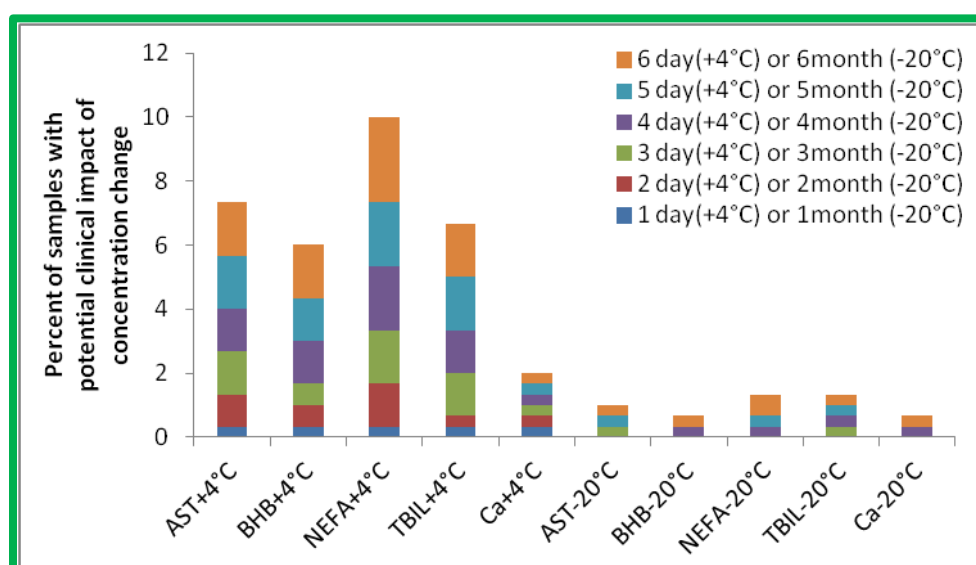
TGC (mmol/L)	0,07- 0,38	+4°C	Linear b PD%	0,04	-0,21	0,25	0,3	-0,3	0,27
			SL (day)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
		-20°C	Linear b PD%	-1,65	-1,6	-1,8	-1,92	-1,68	-1,7
TBIL (μmol/L)	2,14- 16,05	+4°C	Linear b PD%	-0,37	-0,65	-0,46	-0,93	-0,75	-0,61
			SL (day)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
		-20°C	Linear b PD%	-0,25	-0,17	-0,23	-1,42	-0,19	-0,26
AST (IU/L)	74,5- 129,2	+4°C	Linear b PD%	-0,49	-0,45	-0,5	-0,52	-0,41	-0,43
			SL (day)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
		-20°C	Linear b PD%	-2,19	-2,15	-2,22	-2,51	-2,24	-2,17
Ca (mmol/L)	1,89- 2,67	+4°C	Linear b PD%	-0,21	-0,22	0,18	-0,21	-0,2	-0,18
			SL (day)	>6	>6	>6	>6	>6	>6
		-20°C	Linear b PD%	-0,08	-0,09	0,07	-0,07	-0,08	-0,09
P (mmol/L)	1,68- 2,56	+4°C	Linear b PD%	-0,46	-0,4	-0,5	-0,63	-0,66	-0,83
			SL (day)	5,05	4,9	2,85	2,3	4,45	2,85
		-20°C	Linear b PD%	-0,14	-0,15	-0,2	-0,19	-0,22	-0,27
			SL (month)	>6	>6	>6	>6	>6	>6



Стабилност анализата на +4°C током шест дана мерења (ориг.)



Стабилност анализата на -20°C током шест месеци мерења (ориг.)

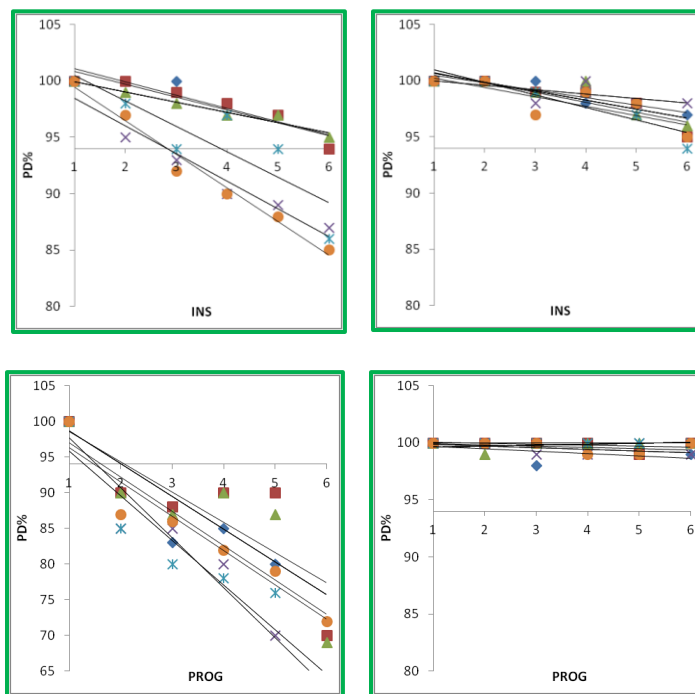


Проценат узорака са потенцијално клинички значајним променама вредности анализата током теста стабилности (ориг.)

Ендокрини параметри – Максимално дозвољена нестабилност израчуната на основу аналитичке и интраиндивидуалне варијабилности кретала се од 6,2 до 6,8 % (Т3, Т4, СТХ, IGF-I и прогестерон) односно до 7,1 до 7,2 % (за инсулин и кортизол) и сматра се да је узорак изгубио стабилност ако се током времена деси промена вредности параметара у проценту изнад ове максимално одређене вредности. Најмању стабилност на +4°C показао је прогестерон који се може чувати до 48h. Следећи је био инсулин који може бити стабилан до 3 дана у узорку који је оптерећен преаналитичким грешкама, али је био стабилнији у узорцима који нису били оптерећени преаналитичким грешкама. Кортизол, Т3 и Т4 имају мању стабилност па се могу чувати до 4 или 5 дана ако је узорак оптерећен преаналитичким грешкама. Код замрзнутих узорака није нађено значајније опадање стабилности током експерименталног периода. И ови подаци се тичу говеђе крви као узорка.

Табела 1. Максимално дозвољена нестабилност (МПИ) ендокринолошких параметара у крви крава

Ендокрини параметар	Максимално дозвољена нестабилност (МПИ)
ИНС	7,1
КОРТ	7,2
Т3	6,1
Т4	6,3
IGF-I	6,2
СТХ	6,8
ПРОГ	6,4

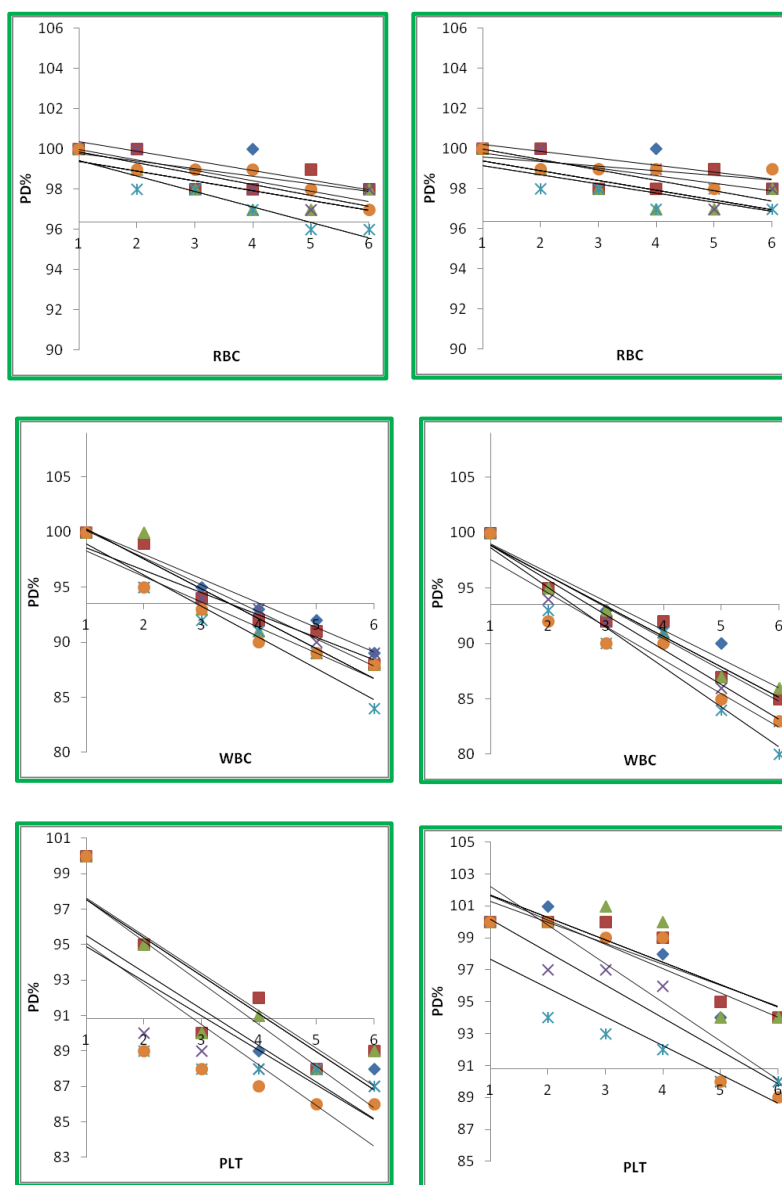


Стабилност инсулина (ИНС) и прогестерона (ПРОГ) на +4°C током 6 дана(лево) и на -20°C током 6 месеци (десно) (ориг.)

Хематолошки параметри – Вршено је одређивање комплетне крвне слике из ЕДТА узорка код говеда, на које се односе добијени резултати. Поред биохемијских испитивана је и стабилност код хематолошких параметара. У првом кораку је одређен максимално дозвољени ниво нестабилности на основу предходно добијених варијабилности у Лабораторији за патолошку физиологију. Вредности МПИ приказани су у табели 3. Температура замрзивача овде није испитивана, јер се у свакодневној пракси пуна крв не замрзава. Резултати испитивања показују да узорци који нису оптерећени преаналитичким факторима могу бити коришћени до 3 дана после узорковања, док касније показују вестабилност. Узорци оптерећени неким од преаналитичких фактора морају се обрадити истога дана или најкасније 2. дана по пристизању у лабораторију.

Максимално дозвољена нестабилност (МПИ) биохемијских параметара у крви крава

Хематолошки параметар	Максимално дозвољена нестабилност (МПИ)
RBC	3,65
HGB	3,7
HCT	3,9
MCV	1,65
MCH	2,05
MCHC	2,31
RDW	2,1
WBC	6,15
NEU	7,45
LYM	7,0
PLT	9,19
MPV	9,0



Стабилност еритроцита (RBC), леукоцита (WBC) и тромбоцита (PLT) на собној температури (лево) и на +4°C (температура фрижидера -20°C, десно) током 6 дана (ориг.)

9.ХЕМОЛИЗА УЗОРКА И ИНТЕРФЕРЕНЦИЈЕ РЕЗУЛТАТА

Хемолиза је процес који подразумева **руптуру еритроцита и ослобађање њиховог садржаја**, укључујући хемоглобин, у спољашњу средину, тј. у серум или плазму. Сам назив хемолиза потиче од грчких речи „хем” (αἷμα, haíma), што значи крв, и „лиза” (λύσις, lúsis), што означава губитак, уништавање или руптуре. Хемолиза може настати ин виво (у организму) и ин витро (у лабораторијским условима), при чему се често јавља као резултат различитих поремећаја здравља или проблема са узорковањем крви.

Разликовање између *in vivo* од *in vitro* хемолизе може се постићи на неколико начина. Ако се хемолизирани узорак појављује у више узастопних слања узорка, велика је вероватноћа да се ради о *in vivo* хемолизи. Ако је један узорак хемолизиран, а други упоредни није, вероватно је да је узрок ин витро хемолиза. Калијум се брзо повећава у хемолизираним узорцима, али у *in vivo* хемолизи, организам има механизме за регулацију концентрације калијума, па калијум остаје у физиолошким границама. Зато калијум није добар дијагностички параметар за разликовање врста хемолизе. У *in vitro* хемолизи јавља се лажна хиперкалиемија. Концентрација лактат дехидрогеназе (ЛДХ) и аспартат аминотрансферазе (АСТ) може бити повишена у случају ин витро хемолизе, и ове вредности корелирају са концентрацијом хемоглобина. У *in vitro* хемолизи, посебно интраваскуларној, концентрација ЛДХ је обично много виша. Хаптоглобин је важан маркер: његова концентрација опада код ин виво хемолизе, док ин витро хемолиза не утиче на овај параметар. Међутим, треба напоменути да је хаптоглобин протеин акутне фазе који зависи од имунолошке реакције и функције јетре, па се његова концентрација може повећати због инфламације или смањити услед оштећења јетре, што може бити специфично за краве током лактације. ЛДХ се такође разликује у зависности од типа хемолизе: у интраваскуларној хемолизи је концентрација ЛДХ знатно виша, док је у екстраваскуларној хемолизи пораст ЛДХ благ. Хематолошки параметри као што су хематокрит, број еритроцита, MCV (средња запремина еритроцита), MCH и MCHC (средња концентрација хемоглобина у еритроциту) такође могу бити погођени хемолизом. У *in vitro* хемолизи, вредности хематокрита и броја еритроцита могу бити лажно снижене, док су у ин виво хемолизи обично непромењене. Параметри као што су MCV могу бити погођени ако се вредности израчунавају, док се у *in vivo* хемолизи могу приметити повишене вредности MCH и MCHC, јер хемоглобин може бити повишен у односу на број еритроцита и хематокрит. Када се разматра ин виво хемолиза, ретикулоцити (млади еритроцити) обично расту, јер организам покушава да надокнади губитак еритроцита, док је код ин витро хемолизе број ретикулоцита углавном непромењен. Дакле, за правилно тумачење хемолизе, важно је узети у обзир све ове параметре и методе, као и да се разликује ин виво од ин витро хемолизе, како би се поставила тачна дијагноза и исправно интерпретирали лабораторијски резултати.

Највећи број преаналитичких фактора, као што су лош одабир вакутајнера/антикоагуланса или игле за венепункцију, неадекватна пуњеност вакутајнера, висока температура транспорта и дуг транспорт или неадекватно одвајање серума у лабораторији довешће до оштећења еритроцита и хемолизе. Хемолиза је резултат лошег утицаја преаналитичких фактора и она директно интерферира са вредностима биохемијских и ендокринолошких параметара у крви у виду лажног повећања или

смањења њихове вредности што води у даље грешке приликом ин-терпретације. У хемолизираном узорку крвни параметри ће показати одступање од ориги-налне вредности због спектрофотометријске интерференције, хемијске интерференције, ослобађања интрацелуларних супстанци из еритроцита или дилуције узорка. Поред наведеног хемолита утиче и на стабилност крвних параметара у већ издвојеном серуму, па је и чување хемолизираних узорка проблематична и ограничена процедура.

У једном огледу је укључено 100 епрувета напуњене до 1/3 запремине, 100 епрувета напуњене 1/3-2/3 запремине и 100 епрувета напуњене максимално до линије. У узорцима крви који су напуњени само до прве трећине нађено је следеће: 10% узорка је показало јаку хемолиту, 48% је показало умерену хемолиту, а 32% није показало знаке хемолите. У узорцима напуњених на нивоу једне до две трећине запремина нађено је 6% узорка са јаком хемолитом, 15% узорка са умереном хемолитом, а 79% узорка је било без хемолите. Код узорка који потичу из оптимално напуњених вакутајнера није било налаза јаке хемолите, 11% узорка је показало умерену хемолиту, а 89% узорка није показало никакве знаке хемолите. Наведена истраживања потврђују да се мора водити рачуна о оптималном пуњењу серумских вакутајнера приликом узорковања крви од млечних крава.

АТП може бити користан индикатор хемолите узорка. Промена вредности АТП-а у функцији слободног хемоглобина подлеже и неким другим механизмима који нису везани искључиво за интензитет хемолите, што захтева додатна истраживања. У оглед је укључено 30 узорка крви крава, које су ретроспективно одабране на основу визуелне инспекције серума. Крв узета од 10 крава је била без видљиве хемолите, код 10 крава је постојала умерена хемолита, а код 10 крава је постојала изражена хемолита. Резултати истраживања показују да концентрација слободног хемоглобина и АТП-а у серуму расту са интензитетом хемолите. Утврђена је значајна позитивна корелација између концентрације хемоглобина и АТП-а. Интересантан налаз је да у контролној групи узорка у којој није визуелно процењено постојање хемолите такође постоји значајна позитивна корелација између АТП-а и слободног хемоглобина.

Детекција хемолите се врши визуелном проценом узорка (што се обесхрабрује) или утврђивањем Х-индекса, а када је ниво хемолите у узорку висок онда се узорак мора одбацити. Одбацавање узорка крви крава је посебно сложено јер захтева поновно ангажовање фармских ресурса ради узорковања крви и поновно транспортовање узорка, што последично смањује ефикасност рада и повећава трошкове. Коришћењем Х-индекса могуће је донети следеће одлуке: 1) ако је ниво хемолите такав да биас услед хемолите не превазилази ниво дозвољене аналитичке варијабилност (CVa), добијене резултате можемо несметано издати кориснику; 2) ако је ниво хемолите такав да биас превазилази аналитичку варијабилност али се налази у оквиру дозвољене интраиндивидуалне варијабилности (RCV) онда налаз можемо издати уз напомену да “хемолита може утицати на вредност параметра” уз евентуалну примену корективних фор-мула, 3) ако ниво хемолите превазилази интраиндивидуалну варијабилност онда ћемо извршити супресију резултата осетљивих на хемолиту и 4) ако је ниво хемолите такав да има више од 10 g/L слободног хемоглобина потребно је без анализирања одбацити узорак и тражити ново узорковање.

Да бисмо могли да донесемо наведене одлуке потребно је да испитано линеарну повезаност између cell-free hemoglobin concentration и варијабилности одабраних био-хемијских и ендокринолошких параметара метаболичког профила који су изражени као

CVa и RCV). Ове линеарне везе се морају урадити за сваки параметар посебно и представљају се на интерферограму, где се на X-осу наноси вредност cell-free hemoglobin concentration, а на Y осу варијабилност параметра (са уцртаним вредностима CVa и RCV). Уцртавањем регресионе линије добијене из експеримента интерференције може се лако одговорити на питање који је то ниво хемолизе изнад ког ће бити превазиђена вредност CVa и RCV за сваки аналит посебно и коју одлуку о узорку донети на основу тога. Циљ овог истраживања је да се утврде наведене линеарне везе нивоа хемолизе и варијабилности крвних параметара кроз контролисани оглед интерференције; да се нивои хемолизе и варијабилности представе на **интерферограму** и да се за сваки параметар утврди који је то ниво хемолизе који доводи до значајног биаса вредности неког аналита у узорку. На тај начин за сваки од параметара метаболичког профила утврдити који ниво хемолизе је прихватљив, који ниво хемолизе захтева одређене корективне мере, а када је потребно одбацити резултате појединих аналита или узорак без даљег анализирања. То ће допринети унапређењу менаџмента хемолизираних узорака и повећању ефикасности и рентабилности одређивања метаболичког профила крви крва.

Тест интерференције и статистичка процена значаја хемолизе - Једна од упарених епрувета центрифугирана је ради добијања узорака без хемолизе. Крв из друге епрувете прошла је кроз иглу 10 пута помоћу инјектора како би се постигла механичка хемолиза. Метод механичке трауме био је пожељан за добијање узорака сличних хемолизованим узорцима који се шаљу у лабораторију и који садрже леукоците и тромбоците. Епрувете су центрифугиране на $2000 \times g$ током 10 минута према препоруци произвођача. У једној епрувети концентрација слободног хемоглобина (Hb) била је 0. У другој епрувети концентрација слободног Hb била је $>10 \text{ g/L}$. Узорци са и без хемолизе су разблажени како би се добили узорци са концентрацијом слободног Hb од 10 g/L за сваку краву. Затим су узорци са 10 g/L слободног Hb разблажени узорцима са 0 g/L како би се добили узорци са 8, 6, 4, 2, 1 и 0 g/L слободног Hb. Хемолизовани узорци разблажени су нехемолизованим узорцима исте животиње, за сваку од 30 крва. Проценат разлике (RCV) израчунат је за узорке сваке краве. Затим су израчунате средње вредности процентуалних разлика за сваку концентрацију Hb користећи процентуалне разлике за 30 различитих крва. Коришћена је следећа формула: $\text{RCV (\%)} = (\text{резултат хемолизованог узорака} - \text{резултат нехемолизованог узорака}) / \text{резултат нехемолизованог узорака} \times 100$. Формула за CVa и RCV коришћена је као у претходном експерименту. Интерферограми су приказани као графици, са концентрацијом слободног хемоглобина на X оси и процентуалним одступањем вредности параметара на Y оси. Дозвољена аналитичка варијабилност (CVa) и дозвољена индивидуална клиничка варијабилност (RCV) приказане су на Y оси. Вредности параметара су приказане у графику као функција концентрације слободног хемоглобина. Затим је одређена једначина линеарне регресије и генерисана регресиона линија. На основу пресека вредности на X и Y оси регресионе линије, могуће је одредити изнад ког нивоа хемолизе узорка ће се јавити аналитички и клинички значајно одступање параметара у односу на вредности у истом узорку без хемолизе. Резултати спроведени у огледу на говедима показују који је то ниво хемолизе када морамо обавезно пријавити хемолизу уз евентуалну примену корективне формуле и када морамо одбацити узорак односно резултат, што зависи од параметра који испитујемо.

Оригиналне концентрације аналита и концентрације измерене после разређења приказане су у табели напред. АНОВА анализа показује да мешање нехемолизованог и

хемолизираног узорка пореклом од исте животиње доводи до значајних одступања вредности свих испитиваних параметара на статистички веома значајном нивоу ($p < 0.01$).

Процентуална одступања концентрације анализата у узорцима којима је додат целл-фрее Хб у односу на парни узорак у ком није било хемолизе (0%) приказана су у Табели 2. Позитивни биас показали су: БХБ, НЕФА, АЛБ, ТПРОТ, УРЕА, АСТ, ЛДХ, ТГЦ, ХОЛ, Са, Р и Мг. Негативни биас показали су: ГЛУ, ТБИЛ, ГГТ, АЛП, ИНС, ТЗ, Т4 анд КОРТ. Одступања параметара у узорку са највишом вредности целл-фрее Хб била су у распону од 0-10 % за УРЕА, Са и Мг; 11-50% за ГЛУ, АЛБ, ТПРОТ, ГГТ, АЛП, ТГЦ, ЦХОЛ, П, ТЗ, Т4, КОРТ; 51-100% за БХБ, ТБИЛ, ИНС и >100% за НЕФА, АСТ анд ЛДХ

Табела – Кретање вредности крвних параметара у функцији концентрације слободног хемоглобина

Крвни параметри	Cell-free hemoglobin concentration (g/L)							SER	АНОВА
	0	1	2	4	6	8	10		
BHB (mmol/L)	0.74	0.8	0.82	0.9	1	1.04	1.15	0.05	0.0012
NEFA (mmol/L)	0.63	0.7	0.79	0.9	1.03	1.13	1.26	0.05	0.0009
GLU (mmol/L)	2.91	2.83	2.62	2.48	2.35	2.22	2.01	0.14	0.0028
ALB (g/L)	38.9	39.5	40.2	41.5	42.2	42.5	43.2	2.35	0.0162
TROT (g/L)	69.1	70.1	71.3	72.2	74.3	75.2	76.8	4.16	0.0182
UREA(mmol/L)	6.45	6.5	6.62	6.7	6.8	6.9	7.05	0.38	0.0413
TBIL (μ mol/L)	7.02	6.51	6.12	5.51	4.38	3.8	3.39	0.30	0.0013
AST (IU/L)	78.6	95.5	110	129.5	163.2	181.1	202.2	7.84	0.0002
GGT (IU/L)	22.8	22.5	21.5	19.7	17.9	16.8	15.8	1.12	0.0057
LDH (IU/L)	351	490	590	720	900	1000	1120.0	42.21	0.0001
ALP (IU/L)	189	180	171	162	154	145	139	9.31	0.0056
TGC (mmol/L)	0.24	0.245	0.25	0.26	0.27	0.275	0.285	0.01	0.0072
CHOL(mmol/L)	3.75	3.8	3.95	4.15	4.29	4.45	4.62	0.24	0.0132
Ca (mmol/L)	2.59	2.59	2.6	2.6	2.61	2.63	2.65	0.15	0.0357
P (mmol/L)	2.27	2.3	2.35	2.4	2.45	2.5	2.55	0.14	0.0044
Mg (mmol/L)	1.04	1.05	1.06	1.094	1.095	1.13	1.14	0.06	0.0223
INS	8.71	7.9	7.2	6.3	5.4	4.5	3.80	0.36	0.0016
T3	0.96	0.95	0.93	0.91	0.89	0.87	0.86	0.05	0.0123
T4	28.4	27.8	27.5	26.9	26.5	26.1	25.50	1.54	0.0250
CORT	25.6	24.8	22.9	22	20.9	19.9	19.30	1.27	0.0011

На основу концентрације cell-free Hb као независне променљиве и процентуалне промене концентрације анализата утврђене су линеарне једначине и њихови коефицијенти детерминације. Процентуално исказан биас анализата је статистички значајно ($p < 0.01$) детерминисан концентрацијом хемоглобина, а постигнути су врло високи коефицијенти детерминације $r^2 > 0.98$ за већину испитваних анализата. На основу ових линеарних формула утврђен је ниво хемолизе који ће довести до процентуалног одступања параметара који превазилази аналитички и клинички дозвољено одступање (CV_a и RCV). Добијене граничне вредности хемолизе представљене су у Табели. Вредности аналитичког прага (CV_a) и клиничког прага (RCV) израчунате су и приказане у овој табели. Концентрације Hb које одговарају овим вредностима израчунате су на основу једначине регресије.

Процентуална промена вредности крвних параметара у функцији концентрације слободног хемоглобина

Крвни параметри (% bias)	Cell-free hemoglobin concentration (g/L)						
	0	1	2	4	6	8	10
BHB	0.00	8.11	10.81	21.62	35.14	40.54	55.41
NEFA	0.00	11.11	25.40	42.86	63.49	79.37	100.05
GLU	0.00	-2.75	-9.97	-14.78	-19.24	-23.71	-30.93
ALB	0.00	1.54	3.34	6.68	8.48	9.25	11.05
TPROT	0.00	1.45	3.18	4.49	7.53	8.83	11.14
UREA	0.00	0.78	2.64	3.88	5.43	6.98	9.30
TBIL	0.00	-7.26	-12.82	-21.51	-37.61	-45.87	-51.71
AST	0.00	21.50	39.95	64.76	107.63	130.41	157.25
GGT	0.00	-1.32	-5.70	-13.60	-21.49	-26.32	-30.70
LDH	0.00	39.60	68.09	105.13	156.41	184.90	219.09
ALP	0.00	-4.76	-9.52	-14.29	-18.52	-23.28	-26.46
TGC	0.00	2.08	4.17	8.33	12.50	14.58	18.75
CHOL	0.00	1.33	5.33	10.67	14.40	18.67	23.20
Ca	0.00	0.39	0.77	0.39	0.77	1.54	2.32
P	0.00	1.32	3.52	5.73	7.93	10.13	12.33
Mg	0.00	0.96	1.92	5.19	5.29	8.65	9.62
INS	0.00	-9.30	-17.34	-27.67	-38.00	-48.34	-56.37
T3	0.00	-1.04	-3.12	-5.21	-7.29	-9.38	-10.42
T4	0.00	-2.11	-3.17	-5.28	-6.69	-8.10	-10.21
CORT	0.00	-3.13	-10.55	-14.06	-18.36	-22.27	-24.61

Линеарне једначине и њихови коефицијенти детерминације на основу процентуалне промене концентрације анализата и концентрације cell free Hb као независне варијабле

Blood parameters	Regression equation (y-% bias, x-Hb conc.)	R ²	CVa%	HI cut-off CVa%	RCV	HI cut-off RCV
BHB	y = 5.3201x + 0.957	0.9913	6.15	0.96	26.5	4.81
NEFA	y = 9.8218x + 2.5353	0.9972	6.42	0.39	35.1	3.31
GLU	y = -2.9538x - 1.401	0.9794	2.55	0.38	12.9	3.90
ALB	y = 1.0954x + 0.9147	0.9762	2.21	1.12	7.6	6.11
TPROT	y = 1.0849x + 0.426	0.9893	2.08	1.40	7.8	6.80
UREA	y = 0.8905x + 0.1979	0.9892	6.1	6.62	24.5	>10
TBIL	y = -5.3246x - 1.6739	0.9861	5.82	0.75	31.75	5.65
AST	y = 15.678x + 5.0673	0.9935	5.62	0.11	39.2	2.18
GGT	y = -3.2805x + 0.3675	0.9874	5.25	1.71	28.9	8.90
LDH	y = 21.27x + 16.265	0.9843	6.12	0.01	11.6	0.11
ALP	y = -2.557x - 2.5083	0.9801	5.89	0.97	10.1	2.95
TGC	y = 1.8558x + 0.4124	0.9936	3.29	1.56	23.6	>10
CHOL	y = 2.3468x + 0.1215	0.9932	3.14	1.29	20.2	8.56
Ca	y = 0.1944x + 0.0217	0.8343	1.13	5.68	10.8	>10
P	y = 1.2163x + 0.4661	0.9919	1.15	0.57	10.7	8.43
Mg	y = 0.9866x + 0.1498	0.9709	1.23	1.10	8.5	8.47
INS	y = -5.5017x - 3.7803	0.9875	10.1	1.15	25.2	3.89
T3	y = -1.0701x - 0.4693	0.9816	9.22	8.19	16.8	>10
T4	y = -0.9452x - 0.8947	0.9797	9.31	8.91	17.5	>10
CORT	y = -2.4264x - 2.5357	0.9434	9.28	2.78	27.1	>10

Интерферограми биохемијских и ендокриних параметара крви код крава приказани су на сликама испод. На основу нивоа хемолизе и одступања вредности испитиваних параметара могуће је донети одлуку о добијеним резултатима тестирања, што укључује директно извештавање, извештавање са интерпретацијом и одбацивање резултата.

Параметри енергетског метаболизма показали су следећи ниво осетљивости на хемолизу:

- Када је Hb мањи од 0,96 g/L, резултати за **BHB** могу се директно извести;
- Када је Hb између 0,96 и 4,81 g/L, резултати се могу извести са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- Када је Hb већи од 4,81 g/L, резултати се морају одбацити.

Резултати за **NEFA** могу се директно извести за узорке са Hb <0,39 g/L;

- Резултати се могу извести са интерпретацијом (додавање регресионе линије) за Hb између 0,39 и 3,31 g/L;
- Резултати се морају одбацити за Hb >3,31 g/L.

Када је Hb мањи од 0,38 g/L, резултати за **GLU** могу се директно извести;

- Када је Hb између 0,38 и 3,90 g/L, резултати се могу објавити са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- Када је Hb већи од 3,90 g/L, резултати се морају одбацити.

Степен хемолизе у узорку мора се узети у обзир приликом извештавања резултата параметара статуса протеина.

- Када је Hb мањи од 1,12 g/L, резултати за **ALB** могу се директно извести;
- Када је Hb између 1,12 и 6,11 g/L, резултати се могу извести са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- Када је Hb већи од 6,11 g/L, резултати се морају одбацити.

За узорке са Hb <1,40 g/L, резултати за **TPROT** могу се директно извести;

- За узорке са Hb између 1,40 и 6,80 g/L, резултати се могу извести са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- За узорке са Hb >6,80 g/L, резултати се морају одбацити.

За узорке са Hb <6,62 g/L, резултати за **UREA** могу се директно извести;

- За узорке са Hb између 6,62 и 20 g/L, резултати се могу извести са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- Резултати са Hb >20 g/L морају се одбацити према формули.
- UREA показује знатно нижу осетљивост на хемолизу у поређењу са ALB и TPROT.

Кључно је извештавати о параметрима функционалног статуса јетре и профила ензима у односу на степен хемолизе. Параметри који су најосетљивији на хемолизу укључују LDH и AST, док је TGC најмање осетљив.

За узорке са Hb <0,75 g/L, резултати за **TBIL** могу се директно извести;

- За узорке са Hb између 0,75 и 5,65 g/L, резултати се могу објавити са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- За узорке са Hb >5,65 g/L, резултати се морају одбацити.

Што се тиче ензима, резултати за Hb (g/L):

- <0,11 (**AST**), <1,71 (**GGT**), <0,01 (**LDH**) и <0,97 (**ALP**) могу се директно извести;
- За Hb (g/L) између 0,11–2,18 (AST), 1,71–8,90 (GGT), 0,01–0,11 (LDH) и 0,97–2,95 (ALP), резултати се могу извести са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- Резултати се морају одбацити за Hb (g/L) >2,18 (AST), >8,90 (GGT), >0,11 (LDH), <0,97 и >2,95 (ALP).

Што се тиче холестерола функције јетре:

- Подаци за Hb (g/L) <1,56 (**TGC**) и <1,29 (**CHOL**) могу се директно извести;
- Податке за Hb (g/L) 1,56–15,5 (TGC) и 1,29–8,56 (CHOL) могуће је извести са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- Податке са Hb (g/L) >15,5 (TGC) и >8,56 (CHOL) треба одбацити.

Минерални статус крва, одражен у концентрацијама Ca, P и Mg, такође треба извести у складу са нивоом хемолизе у узорку. Са је мање осетљив на хемолизу у поређењу са P и Mg.

- За узорке са Hb (g/L) <5,68 (**Ca**), <0,57 (**P**) и <1,10 (**Mg**), резултати могу бити директно објављени;
- За узорке са Hb (g/L) 5,68–25,7 (Ca), 0,57–8,43 (P) и 1,1–8,47 (Mg), резултати могу бити објављени са интерпретацијом (додавање регресионе линије);
- Резултати за Hb (g/L) >25,7 (Ca), >8,43 (P) и >8,47 (Mg) су за одбацивање.

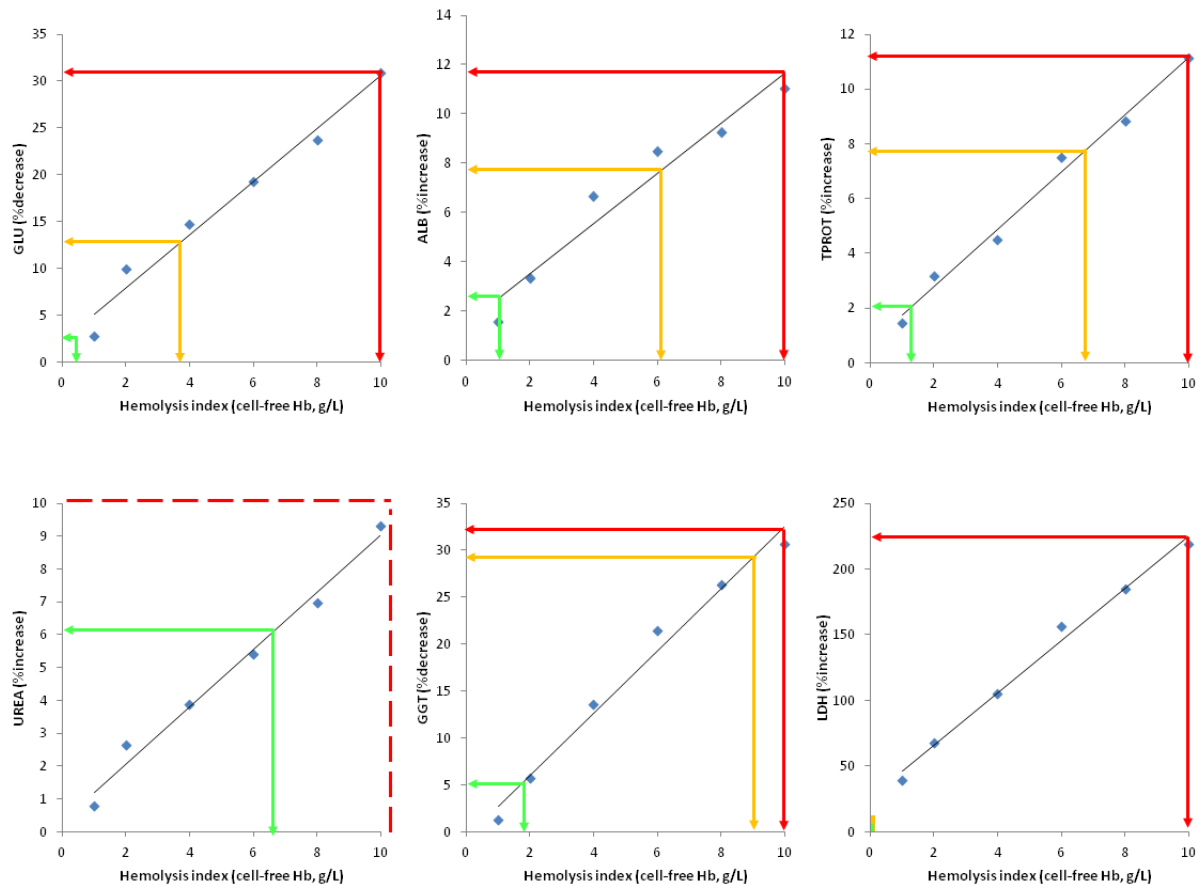
Што се тиче хормона, инсулин (INS) показује значајну осетљивост на хемолизу, док су T3, T4 и кортизол (CORT) аналитички, али не и клинички осетљиви на ниво хемолизе (хемоглобина без ћелија) у узорку.

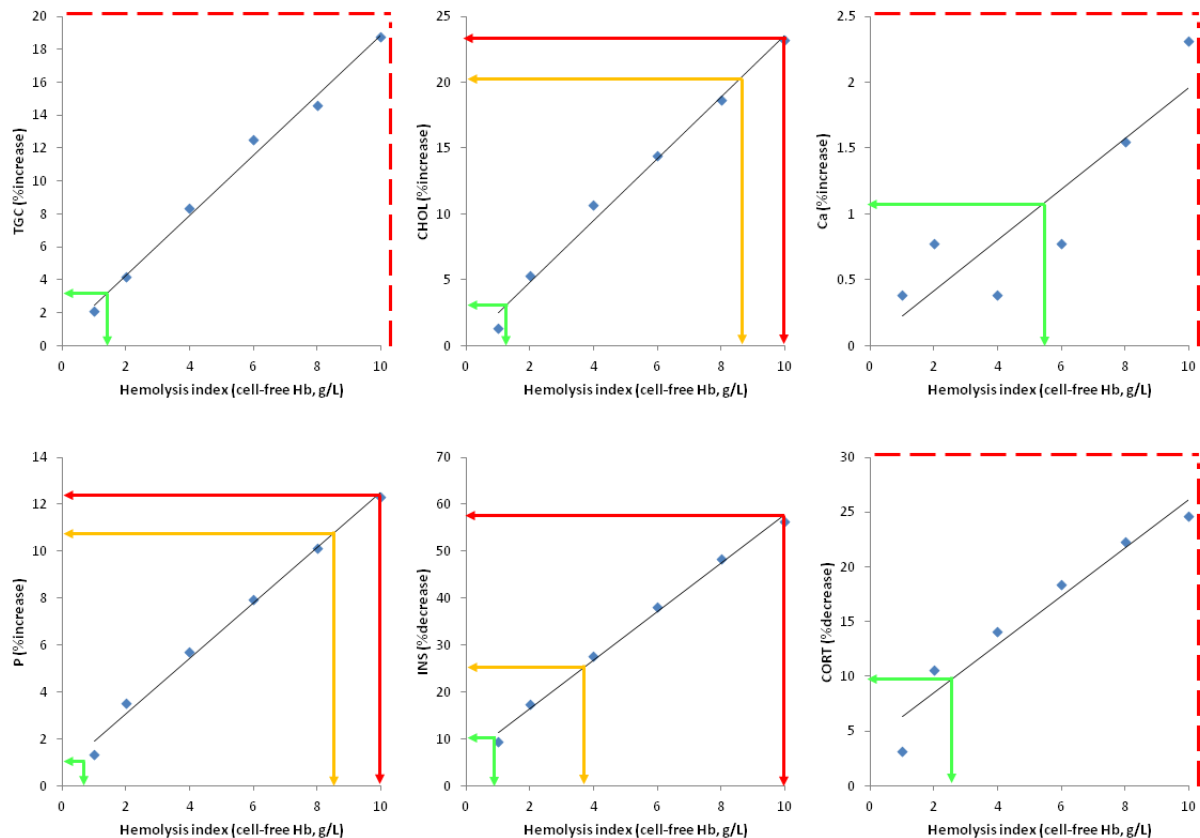
- Резултати за **INS** могу се директно извести за узорке са Hb <1,15 g/L;
- Резултати могу бити објављени са интерпретацијом (додавање регресионе линије) за Hb 1,15–3,89 g/L;
- Резултати треба да буду одбачени за Hb >3,89 g/L.

Што се тиче других хормона:

- Резултати могу бити директно објављени за узорке са $Hb < 8,19 \text{ g/L}$ (**T3**), $< 8,91 \text{ g/L}$ (**T4**) и $< 2,78 \text{ g/L}$ (**CORT**);
- Резултати могу бити објављени са интерпретацијом (додавање регресионе линије) за $Hb 8,19\text{--}15,6 \text{ g/L}$ (**T3**), $8,91\text{--}18,5 \text{ g/L}$ (**T4**) и $2,78\text{--}11,22 \text{ g/L}$ (**CORT**);
- Резултати су за одбацавање за $Hb > 15,6 \text{ g/L}$ (**T3**), $> 18,5 \text{ g/L}$ (**T4**) и $> 11,22 \text{ g/L}$ (**CORT**).

Интерферограми корелација измеђи концентрације хемоглобина и биаса испитиваних параметара под утицајем хемоглобина. Зелена линија – вредност хемоглобина до ког се несметано извештава о резултату, наранџасте линије – вредности Хб до ког се извештава уз регресиону формулу или напомену, вредност изнад наранџасте линије захтева понављање анализе параметара осетљивих на хемолизу, а црвена линија је граница када се мора одбацити резултат (ориг.)





Аналитички и клинички значај хемоллизе – У наведеном испитивању укључене су краве са вредностима ендокриних и метаболичких параметара који су се налазили у оквиру познатих референтних вредности, што значи да су у испитивање укључене краве које имају добар енергетски, протеин-ски и јонски статус, а јетра није била оптерећена. У разматрању резултата веома је значајно да се утврди да ли је постојала *in vivo* хемолиза у узорцима. *In vivo* хемолиза се одликује парамелним порастом вредности ЛДХ и АСТ, а како је активност наведених ензима била у оквиру референтних вредности (а нису постојали хематолошки знаци *in vivo* хемоллизе) можемо рећи да у овом огледу нису учествовале јединке/узорци са *in vivo* хемоллизом. У огледима контролисане интерференције, као што је овај, неопходно је имати узорке са уједначеним и неекстремним вредностима метаболичких и ендокриних параметара јер осетљивост на хемолизу може зависити од иницијалне концентрације неког параметра. Тако је показано да у узорцима са иницијално ниском вредношћу инсулина или са високом вредношћу АСТ постоји значајно мања осетљивост ових параметара на хемолизу. Одговор на хемолизу зависи и од начина на који је хемолиза изведена у огледу. Најчешћи начин извођења хемоллизе у огледима је додавање чистог хемоглобина у серум, осмотски шок, апсирација крви кроз иглу за узорковање или пуштање целе крви кроз циклус замрзавање-одмрзавање. Сматра се да је метод аспирације (који је коришћен у овом огледу) најосетљивији на хемолизу, док је најмање осетљив метод са додавањем слобод-ног хемоглобина. Ипак, метод са аспирацијом је најближи реалној *in vitro* хемолизи јер одражава хемолизу насталу током узорковања у преаналитичкој фази. У нашем огледу

смо користили узорак пореклом од исте животиње за прављење различитих разблажење. Коришћење узорка пореклом од исте животиње је веома значајно приликом механичког изазивања хемолизе јер позитивно утиче на репродукцибилност биаса анализата, чиме се добија реалнији приказ утицаја хемолизе код говеда.

Хемолиза доводи до опадања вредности ГЛУ, ТБИЛ, ГГТ, АЛП анд хормонес (ИНС, ТЗ, Т4, КОРТ), док су остали испитивани параметри показали пораст са порастом интензитета хемолизе. Слични резултати утврђени су у различитим истраживањима, а поједина одступања могу се приписати специфичностима употребљених метода и апарата као и нестандард-изованом приказивању нивоа хемолизе.

До негативног биаса, односно опадања вредности ГЛУ, ТБИЛ, ГГТ анд АЛП долази због тога што су ови аналити много мање заступљени у еритроцитима него у серуму/плазми, па долази до дилуционог ефекта приликом ослобађања садржаја из хемолизираних еритроцита. Поред тога, нижа вредност ТБИЛ се може наћи као последица хемијске интерференције, јер целл-фрее Хб инхибира развој боје у колориметријској реакцији. Опадање вредности ових биохемијских параметара на аналитички значајном нивоу настали су при концентрацијама од 2-5 g/L cell-free Hb, што се слаже са ранијим резултатима у којима су дилуциони ефекти видљиви када постоји севере хемолусис са >3g/L Hb. Када се ради о хормонима највећу осетљивост према хемолизи је показао ИНС. Значајно опадање његове вредности је последица тога што се током хемолизе из еритроцита ослобађају протеазе које уништавају пептидне хормоне као што је ИНС. ТЗ, Т4 анд КОРТ показују нижу концентрацију приликом додавања хемолизираних узорка, али је потребно да постоји веома висок ниво хемолизе да би дошло до биаса који превазилази аналитички односно клинички дозвољену варијабилност ових хормона. КОРТ и Т4 су хигхлу протеин-боунд хормони у крвотоку, па тачно мерење ових хормона пре свега зависи од способности есеја да моле-куле хормона одвоји од биндинг протеина. Наше методе подразумевају хемилуми-нисцентни начин мерења хормона код којих а хемолиза не показује спектрофотометријску интерференцију, што потврђује да је постојао доминантан утицај хемијске интерференције на концентрацију хормона преко протеаза које деградирају хормоне, антитела и друге про-теинске системе значајне за тачно одређивање хормона у неком есеју.

Хемолиза доводи до позитивног биаса, односно пораста вредности БХБ, НЕФА, АЛБ, ТПРОТ, УРЕА, АСТ, ЛДХ, ТГЦ, ХОЛ, Са, Р и Mg са порастом интензитета хемолизе. Аналити као што су ЛДХ, АСТ, Р су посебно осетљиви на хемолизу јер је њихова концентрација у еритроцитима већа 40 пута (АСТ) или преко 100 пута (ЛДХ, Р) у еритроцитима у односу на плазму. Пораст вредности концентрације НЕФА утврђен је у ранијим радовима као последица слободног хемоглобина који повећава апсорбанцу узорка у енд-поинт реакцијама. Концентрација БХБ према интензитету хемолизе је показивала позитиван биас код говеда из сличних разлога као и код НЕФА. Ипак код одређених есеја БХБ је показала стабилности и неосетљивост на хемолизу. Лажни пораст вредности НЕФА и БХБ је веома значајан и обавезно се мора кориговати обзиром да може довести до лажне интерпретације енергетског биланса или детекције кетозе. Пораст вредности осталих параметара може настати као последица аналитичке интерференције cell-free Hb. Иако концентрација Са расте са нивоом хемолизе, она показује најмању линеарну повезаност са концентрацијом хемоглобина, што се слаже са предходним налазима.

Добијене вредности биаса одговарају биасу који је утврђен у досадашњим испитивањима код говеда и других врста. Поред наведеног у многим радовима је утврђена

линеарна повезаност између нивоа хемолизе/хемолизних индекса и концентрације испитиваних параметара. Линеарна повезаност оригиналних концентрација параметара и нивоа хемолизе није могла да одговори на питање какав је заиста ефекат хемолизе на варирање параметара, а тај проблем је решен израдом линеарних формула које повезују ниво хемолизе са биас %. Овакве корелације омогућиле су да се утврде граничне вредности хемолизе које неће превазићи дозвољени ниво варирања параметара. Хемолиза и начин њене детекције зависи од инструмената и метода које се користе, а потребно је било да се утврде универзалне методе за процену утицаја хемолизе на анализе. За ту сврху су формиран интерферограми који на X оси садрже концентрацију хемоглобина, а на Y оси биас. На Y оси се означавају два значајна биаса и то аналитички значајан биас који представља CVa и клинички значајан биас који представља RCV. Упаривањем ових биаса са концентрацијом Hb преко добијене регресионе линије долазимо до закључка о коначном ефекту хемолизе на варијабилност параметра. Могућ је тројак ефекат хемолизе од ког ће зависити и наша одлука: ниво хемолизе је изазвао биас који не превазилази CVa – издаћемо резултате без ограничења; ниво хемолизе је издао биас између CVa и RCV – издаћемо резултате уз коментар да хемолиза узорка може имати значајан утицај; ниво хемолизе изазива биас који превазилази RCV и такав налаз нећемо издати и предложимо ново узорковање. Наведене методе и препоруке представљају званичне препоруке *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM), Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE)* и као такве су дословно примењене у нашем истраживачком поступку на узорцима пореклом од говеда. CVa, CVi и RCV у нашем огледу смо добили из оригиналних лабораторијских мерења у процени интерне контроле квалитета који се прате већ неколико година у назад и показују добру стабилност уз блага одступања. Утврђена је веома значајна линеарна повезаност ($R^2 > 0.98$ за већину испитиваних параметара) између нивоа хемолизе и биаса испитиваних параметара. Високе корелације и регресионе линије се слажу са предходним резултатима аутора и представљају основу за коришћење интерферо-грама у процени утицаја хемолизе на настанак биаса. Концентрација целл фрее Хб при којој настаје аналитички и клинички значајан биас је најнижа код ЛДХ и АСТ. ЛДХ показује клинички значајан биас при концентрацијама фрее Hb = 0,11 g/L. Висока осетљивост је потврђена и у другим огледима где је пораст вредност ЛДХ нађен при концентрацији Hb = 0,25 g/L до 0,5 g/L. Клинички значајна одступања АСТ услед хемолизе настају при концен-трацији Hb = 2,18, док су у другим радовима утврђене такође ниске вредности хемолизе у распону од 0,8-2 g/L. При концентрацијама хемоглобина од 0-1,5 g/L узорак може показати знаке благог жутог или наранџастог пребојења и макроскопски не указује на хемолизе, али може показати значајне интерференције за ова два параметра. Када се ради о осталим параметрима њихова осетљивост на cell-free Hb се у великој мери слаже са до сада утврђеним резултатима, тако да клинички значајан биас настаје при концентрацији Hb у распону од 2 до 9 g/L, док су те вредности више за триглицериде, што је потврђено и у нашем огледу. Исти извор је нашао да је ИНС много осетљивији на хемолizu у односу на друге хормоне, што се слаже са нашим резултатима. За велики број параметара можемо издати ре-зултат чак и када постоје они нивои хемолизе који се могу видети голим оком (cell-free Hb >2 g/L), па је потребно рационално приступити оваквим узорцима када се појаве у свакодневном раду. У таквим случајевима ако хемолиза није изазвала клинички значајан биас могу се издати корективне линеарне формуле уз коментар налаза како би се кориговала добијена вредност. Употреба корективних формула за прилагођавање резултата у

узорцима са хемолизом се сматра адекватном када се ради о ИНС, али би могла довести до грешака ако се ради о неким другим параметрима због велике интраиндивидуалне варијације. Рационална употреба корективних формула код хемолизе говеда није до сада истраживана и биће тема за будућа истраживања. Према препорукама *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* неопходно је да се редовно врши валидација хемолизних индекса због могућег клиничког импакта хемолизе на добијене резултате, па је овај рад корак у том правцу у нашој ветеринарској клиничкој лабораторији која испитује говеђе узорке.

Хемолиза узорка може утицати и на хематолошке параметре. Хемолиза је најважнији преаналитички фактор који значајно утиче на вредности биохемијских параметара. Иако је утицај хемолизе на вредности биохемијских параметара добро документован, није довољно истражено како хемолиза утиче на хематолошке параметре код крава у лактацији. Циљ ове студије био је да се утврди ефекат хемолизе на хематолошке параметре код крава у раној лактацији.

Из базе података издвојено је 10 узорака крви у којима је присутна хемолиза и 10 узорака крви без хемолизе, узетих након поновљеног узимања крви од истих крава. Узорци су добијени венепункцијом в. цоццугеа, коришћењем вакутајнер система са ЕДТА. За лабораторијску анализу коришћен је Хемавет хематолошки анализатор са софтвером за стоку. Хемолиза је процењивана визуелно. Резултати показују да је код хемолизованог узорка дошло до смањења хематокрита (HCT), броја црвених крвних зрнаца (RBC), средњег запреминског волумена (MCV) и запреминског волумена крвних зрнаца (PCV), док су повећани MCH, MCHC и број тромбоцита. Укупан број леукоцита показује опадајући тренд. Занимљиво је да опрема није показала промене у концентрацији хемоглобина, упркос визуелној идентификацији. Резултати су у складу са ранијим истраживањима спроведеним на другим животињским врстама и људима. Промене у HCT, PCV и броју RBC настају зато што се лизирана црвена крвна зрнаца не рачунају у бројање или мерење PCV (HCT зависи од броја RBC). Хемолиза доводи до виших вредности хемоглобина у односу на HCT и број RBC, те ће индекси повезани са овим мерењима, као што су средња хемоглобинска маса (MCH) и концентрација хемоглобина у средњем запреминском волумену (MCHC), бити лажно повишени и могу бити поништени. Средњи запремински волумен (MCV) директно се мери аутоматизованим анализаторима и није под утицајем хемолизе (осим ако није израчуната вредност из PCV). Код хемолизе, остаци црвених крвних зрнаца могу бити грешком бројани као тромбоцити, што доводи до лажног повећања броја тромбоцита. На крају, будући да аутоматизовани анализатори намерно лисе црвена крвна зрнаца како би мерили хемоглобин, мерење хемоглобина је исто, било да је хемолиза присутна или не. Хемолиза узорка код говеда у раној лактацији може довести до одступања у вредностима хематолошких параметара. У хематолошким тестовима потребно је пажљиво проверити и упоредити директно мерене и израчунате параметре.

10. УПОТРЕБА ЗБИРНОГ УЗОРАКА КРВИ У ПРОЦЕНИ МЕТАБОЛИЧКОГ СТАТУСА

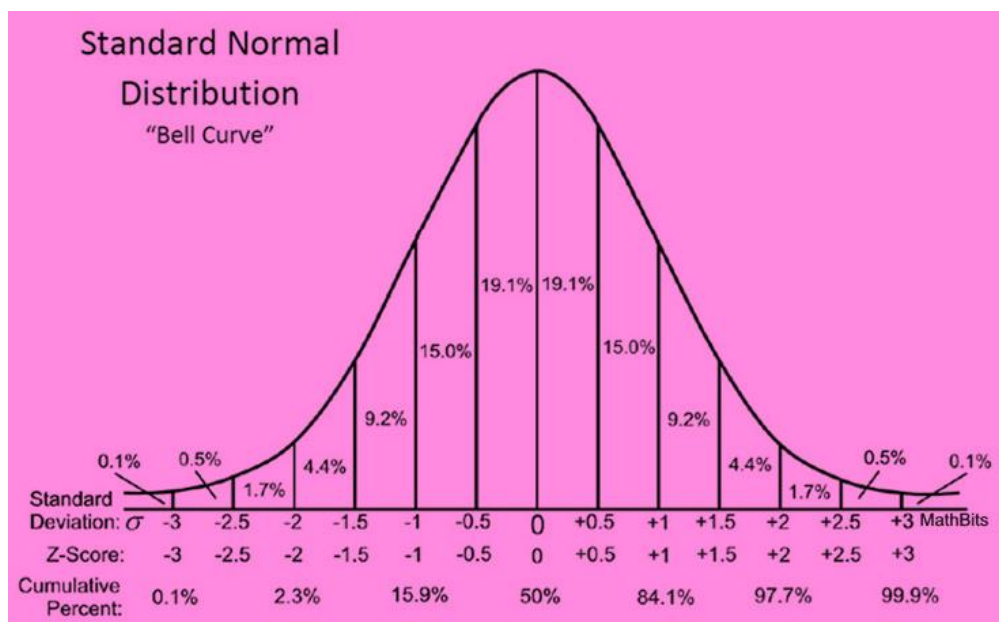
Збирни узорци крви представљају економичан и ефикасан начин за проучавање стања одређене популације, као и одговора на спољашње и унутрашње факторе. У ветеринарској медицини и сличним областима, њихова примена је широка – од дијагностике заразних болести до контроле квалитета у лабораторијама. **Када се спрема збирни узорак, серум/плазма од више јединки се спаја у један узорак, а затим се мери одређени параметар. Веома је значајно да се од сваке јединке додају идентичне запремине серума/плазме у збирни узорак, како би допринос сваке јединке био идентичан.** Приликом употребе збирних узорака важно је разумети њихове предности и ограничења. Збирни узорак стога приказује аритметичку средину вредности која је присутна у популацији. Предности збирних узорака укључују уштеду времена, смањење трошкова и лакше чување узорака, док појединачни узорци захтевају више ресурса (простора, времена и новца), уз већи потенцијал за грешке. На аналитичком нивоу, збирни узорци омогућавају прецизније одређивање лимита детекције, јер се користе мале количине крви од више узорака, док за појединачне узорке мора бити осигурана довољна количина крви из једног извора. Међутим, **код збирних узорака статистичка процена варијабилности је ограничена. Може се израчунати само средња вредност,** док код појединачних узорака можемо проценити и варијабилност унутар популације. Такође, приликом анализе збирних узорака, треба узети у обзир специфичности узорака који се групишу и параметара који се мере. Збирни узорци крви су корисни за праћење нивоа изложености одређеним факторима у различитим подпопулацијама, као и за праћење промена у тим нивоима током времена или у различитим географским подручјима. Грешке у анализи збирних узорака могу настати услед неколико фактора: грешака у мерењу, грешака у процесу груписања (нпр. непрецизност у преузимању и транспорту узорака) и одступања од идеалне нормалне расподеле биомаркера у популацији. Грешке у процесу груписања могу бити нарочито изражене ако су у питању узорци са великим разликама у вредности или репрезентативности појединих узорака унутар групе. С обзиром на то, од кључне је важности правилно дизајнирати методологију узорковања и анализирања збирних узорака. Статистички приступи за процену варијансе и перцентила на основу збирних узорака често се ослањају на претпоставку нормалне расподеле. Ако основна дистрибуција није нормална, тачност процене варијансе може бити умањена. У том контексту, потребно је пажљиво утврдити који параметри у популацији показују нормалну расподелу, а који одступају, како би резултати били што прецизнији.

Кроз анализу збирних узорака крви можемо постићи генерализоване процене о стању популације, али је неопходно разумети специфичне карактеристике сваке анализе како би резултати били валидни. У највећем броју истраживанај резултати добијени из тих збирних узорака били су слични (неретко и идентични) онима добијеним из појединачних узорака, што указује на то да су средње биохемијске вредности из збирних узорака биле у складу са вредностима из појединачних узорака. То значи да поређењем просечне вредности појединачних узорака и пула добијеног њиховим мешањем добијамо идентичне или сличне вредности чије је одступање толико да није статистички значајно. То се постиже ако већина биохемијских индикатора који се процењују нису под утицајем

других фактора присутних у серуму, као што су на пример контаминанти или варијације у начину узорковања.

Аутори су указали на неколико предности и ограничења употребе збирног узорка у поређењу са појединачним узорцима. Једна од предности је што протокол обједињене серије узорака може бити погодан за анализу биолошких узорака у великим студијама, али постоји и ограничење у том приступу. Наиме, из збирних узорака није било могуће детектовати дистрибуције варијабли или неочекиване одступања у подацима, што може довести до пристрасних резултата. Због тога су резултати из збирних узорака сматрани само прелиминарним, а не коначним. Такође, мерења из збирних узорака нису погодна за истраживање односа између различитих варијабли, што значи да се не могу користити за анализу корелација међу анализираним факторима. Иако су збирни узорци корисни за рутинске клиничке анализе, они се показују и корисним за специфичне анализе као што су витамини. Тако на пример испитивање концентрације ретинола, бета-каротена и алфа-токоферола показује одређена одступања у њиховим концентрацијама услед губитака изазваних оксидацијом током поновљених одмрзавања и замрзавања узорака, али су резултати показали добру релативну сагласност између нивоа ретинола и бета-каротена у збирним узорцима.

Када се тумаче резултати збирног узорка крви, важно је не ослањати се само на поређење просечних вредности са референтним опсегом, јер то не даје потпуну слику стања популације. Правилнији приступ је да се **поређи измерена вредност и њено варирање у односу на централну тенденцију референтне популације, што значи да треба да се упоређи удаљеност (З-скор) измерене вредности збирног узорка од средње вредности референтне популације.** Овај приступ узима у обзир и варијације међу појединцима, јер збирни узорак представља популацију која има појединце са вредностима изнад и испод средње вредности.



Слика однос Z скора, стандардне девијације и кумулативног процента вредности (извор: <https://mathbitsnotebook.com/Algebra2/Statistics/STzScores.html>)

Опште правило је да средња вредност прикупљених узорака треба да буде близу средине референтног опсега како би се сматрала нормалном. Критеријуми за тумачење средњих вредности нису потпуно дефинисани, али се сматра да би средња вредност требало да буде унутар 1 до 1,3 стандардне девијације референтне популације, како би се закључило да нема јединки са значајним метаболичким проблемима. У истраживањима је пронађено да, ако у популацији постоји до 10% абнормалних вредности, одступање збирног узорка од средње вредности популације износи око 0,26 стандардних девијација. Међутим, ово одступање варира у зависности од анализата који се мери. На пример, глукоза има одступање од само 0,11 стандардних девијација, док је за БХБ одступање веће, око 0,6 стандардних девијација. Истраживање је такође показало да постоји линеарна повезаност између броја стандардних девијација које се измери у збирном узорку (или средњој вредности) и процента абнормалних вредности унутар узорка. Коришћењем ових односа могу се креирати смернице за интерпретацију средњих и збирних узорака, односно за одређивање концентрација анализата у односу на референтне вредности. Једно од питања које истраживање покушава да одговори је како се ове удаљености (одступања од средње вредности) мењају у зависности од процента оболелих јединки у популацији (нпр. крава које пате од неке болести). Као пример, резултати су показали како промена концентрације одређених анализата утиче на процентуално учешће абнормалних вредности у збирним узорцима. Установљени су резултати који повезују концентрације у збирним узорцима крви и процента животиња које имају абнормалне вредности. Када се ради о албумину ако је концентрација у збирном узорку 38,5 g/L, нема абнормалних вредности; ако је 36,8 g/L, 20% узорака је абнормално, а ако је 35,1 g/L, 40% узорака има абнормалне вредности. За АСТ, 0% абнормалних вредности се јавља ако је концентрација 93,8 IU/L, 20% ако је 99,3 IU/L, и 40% ако је 104,7 IU/L. Код БХБ, нема абнормалних узорака ако је концентрација 0,52 mmol/L, 20% абнормалних ако је 0,9 mmol/L, и 40% ако је 1,28 mmol/L. Ови подаци указују на то како промене у концентрацији одређених анализата могу утицати на број абнормалних вредности унутар збирног узорка и како се ови подаци могу користити за боље тумачење лабораторијских резултата у ветеринарској пракси.

Примена пулованог узорка на примеру кетозе код крава - Кетоза је најзначајније метаболичко обољење код крава које настаје као последица појачане хомеорезе и негативног енергетског биланса у период од почетка до пика лактације, а одликује се повећаном липолизом, кетогенезом, развојем масне јетре, инфламације и инсулинске резистенције. Преваљенција кетозе износи од 15 до 45%, а штета коју ово обољење доноси је изузетно високозбог придружених болести, смањења репродуктивних перформанси, лошије производње млека и чешћег искључивања крава из производње. Кетоза се дијагностикује лабораторијски, када су граничне вредности БХБ у крви >3 mmol/L за клиничку кетозу и 1,2-2,9 mmol/L за субклиничку кетозу, док је вредност БХБ у млеку десет пута нижа. Утврђене су граничне вредности и за друге параметре из метаболичког профила као што су НЕФА, глукоза или АСТ, што олакшава дијагностику кетозе. Због високе преваљенције потребно је одредити велики број метаболичких профила, што представља додатни трошак, па је испитана могућност коришћена пула серума у процени метаболичког статуса крава. До сада је објављен мали број резултата, а утврђена је разлика средње вредности метаболита у пулованом узорку код здравих и болесних крава. Концентрација у пулованом узорку зависи од процента крава чије се вредности налазе изван референтних вредности. Циљ овог рада је да се за утврди релативна позициона вредност (Z-скор) метаболита из пулованог узорка у односу на средњу референтну

вредност код здравих и кетозних крава, да се утврди разлика у Z-скор у здравих и кетозних крава, и да ли се вредност Z-скора мења у функцији процента кетозних крава чији су узорци укључени у справљање пула узорка.

Узорци и прављење пула серума - У оглед је укључено 50 узорака пореклом од крава са кетозом и 50 узорака пореклом од здравих крава. Краве су припадале Холштајн фризијској раси. Узорци су допремљени у Лабораторију за патолошку физиологију на Департману за ветеринарску медицину, Универзитета у Новом Саду у циљу лабораторијске дијагностике кетозе или редовног мерења метаболичког профила крава. Од сваке краве је добијено 4 mL серума. Пул серума је направљен од 10 појединачних узорака пореклом од 10 различитих крава. Из сваког узорка је узет 0,1 mL серума, па је на крају добијен пул серума запремине 1 mL. Прављене су две врсте пулова серума. Направљено је 30 пулова серума пореклом од крава са кетозом и 30 пулова серума пореклом од здравих крава. Такође је направљено 60 пулова серума који садрже помешане серуме здравих крава и крава са кетозом и то на следећи начин: 10 пулова садржи 10% кетозних крава (1 појединачни узорак од 10 колико их учествује у пулу, 1/10), 10 пулова садржи 20% кетозних (2/10), 10 садржи 30% кетозних (3/10), 10 садржи 40% кетозних (4/10), 10 садржи 50% кетозних (5/10) и 10 садржи 60% кетозних (6/10). Здраве краве и кетозне краве које улазе у пул су одређене методом случајног одабира.

Најпре је вршено утврђивање разлике у концентрацији метаболита у пулу серума и израчунате средње вредности метаболита из појединачних узорака који су учествовали у справљању тог пула код здравих и кетозних крава. Формиране су 4 групе које укључују пул здраве, меан здраве, пул кетозне и меан кетозне, а коришћена је АНОВА анализа. Одређена је релативна позициона вредност сваког појединачног метаболита било да је одређена у пулу или да је израчуната из појединачних узорака који су учествовали у справљању тог пула. **Релативна позициона вредност исказана је кроз Z скор** по следећој формули $Z = (x - \mu) / SD$, где је Z- позициона вредност (Z-скор), x – вредност пула или средња вредност појединачних узорака који учествују у справљању тог пула, μ – средња вредност популације и SD – стандардна девијација популације. Средња вредност популације и SD популације одређена је на основу референтних вредности за млечне краве које је установила наша лабораторија, а укључивала је краве са територије на којима се налазе фарме од којих потичу узорци у овом истраживању. Да би се утврдила могућност коришћења Z скор пула као универзалног показатеља испитана је корелација између Z скор пула и израчунате средње вредности пореклом од истих узорака који су формирали пул помоћу Пирсоновог коефицијента корелације. Потом је испитано да ли се на основу вредности Z скор може вршити раздвајање здравих и кетозних крава, што је графички представљено као ROC крива и одређена је површина испод ROC криве (ROC AUC). На крају је испитана веза између вредности Z скор и % крава са кетозом у пулу узорка помоћу Пирсоновог коефицијента корелације и испитивањем регресионих линија. Средња вредност и прелиминарни 95%CI референтни интервал Z-скора израчунати су у функцији процента кетозних крава у пулованом узорку. За статистичку обраду је коришћен стандардни статистички пакет.

Резултати истраживања показују да се средње вредности пула и средине појединачних узорака који учествују у том пулу, као и Z-скор пула и израчунатих средње вредности значајно разликују код здравих крава и крава у кетози, осим када је у питању ТПРОТ и Са, где нису утврђене статистички значајне разлике између здравих и кетозних крава. Нађена је виша вредност и виши Z-скор за БХБ, НЕФА, УРЕА, ТБИЛ и

АСТ, а нижа вредност и нижи Z-скор за ТГЦ, ЦХОЛ, ГЛУ, АЛБ и Р код кетозних крава у односу на здраве краве. Нема статистички значајне разлике између измерене вредности пула и израчунате средње вредности појединачних, као и њихових Z-скорова у оквиру здраве или кетозне групе крава засебно. Вредност Z-скора пулованог узорка и израчунате средње вредности појединачних узорака који учествују у пулу међусобно високо корелирају (коефицијентом тетерминације преко 99%), па се Z-скор пулованог узорка може користити у процени метаболичког статуса крава и дијагностике кетозе. Извођењем логистичке регресије и анализом ROC криве закључујемо да се Z-скор метаболита у пулованом узорка може користити за разликовање здравих од кетозних крава (вредност ROC AUC је била од 0,711 до 0,989), осим када су у питању ТПРОТ и Са (вредност ROC AUC је око 0,5).

Вредност Z-скора пулованог узорка показује линеарну повезаност са процентом кетозних крава у пулу за све испитане параметре осим за ТПРОТ и Са. На основу корелицијента корелације закључујемо да постоје умерене до веома јаке везе између Z-скора и процента кетозних крава у пулованом узорку. На основу израчунате средње вредности и 95CI опсега за вредност Z-скора, нашли смо да се референтни опсези Z-скор значајно мењају у функцији процента крава са кетозом које учествују у пулу, посебно када има више од 30% оваквих крава у оквиру пула.

Савремена истраживања метаболичког профила код крава **крећу се у правцу добијања што већег броја информација из што мањег броја узорака** односно што мањег броја метаболичких параметара који се одређују у биолошком материјалу као што је крв или млеко. Циљ је да се од великог броја резулата добије један централни резултат односно податак који би указивао на постојање неког метаболичког дисбаланса. Данас се користе бројне технолошке методе од сензора до различитих модела неуронских мрежа како би се максимизирала вредност рутинских добијених података у дијагностици кетозе, а употреба Z-скорова је од великог значаја приликом нормализације мреже. У циљу добијања интегралних података вршено је и утврђивање интраиндивидуалне варијабилности и референтне вредности засноване на јединки, а утврђивано је да ли се на основу класификације крава према вредности метаболичких параметара у одређеном моменту пре или након телења може добити јасна претпоставка о варирању метаболита у целокуној раној лактацији. Одређивање главних компонената и редукција броја метаболичких параметара код крава у кетози показује који параметри имају већи, а који мањи значај приликом дијагностике, а центрирање и нормализација ових параметара употребом Z-скора је такође од велике важности. У нашем раду смо испитивали могућност редуктовања броја узорака кроз пуловање појединачних узорака, а Z-скор је одабран као универзални показатељ позивије пула у оквиру познате дистрибуције фреквенције референтних вредности који се користе у нашој регији. Дистрибуција фреквенције пулова у односу на нормалну дистрибуцију изражена кроз QQ плот показује сигмоидну криву (неприказани резултати) што имплицира склоност пулова да буду уједначени и стабилнији од појединачних узорака, а што даље може омогућити рационалнији приступ дијагностици кроз интегрални податак као што је Z-скор пула узорака. Пуловање узорака различитих биолошких материјака и одређивање Z-скора је од великог значаја у савременим истраживањима које користе омикс методе и значајни су показатељ у процени и изражавању варијабилности. Све наведено говори у прилог напорима да се пронађе начин да се из што мањег броја узорака и/или што мањег броја

крвних параметара добије максимално валидна дијагностичка или прогностичка информација, а пуловање и употреба Z-скора имају велики значај.

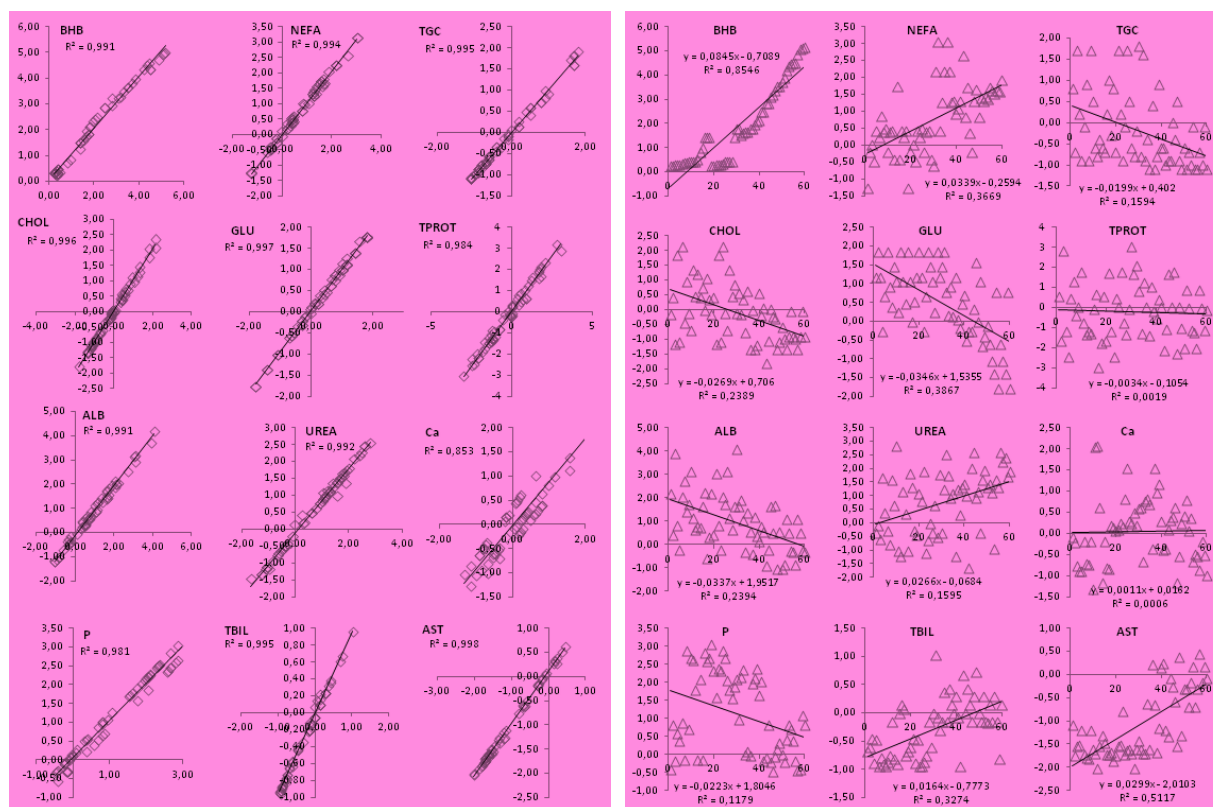
Одређивањем концентрације метаболита у пулу узорка добија се јединствена вредност која се односи на стадо које учествује у пулу. Постоји готово идеална корелација између Z-скора пула и индивидуалних вредности, што значи да је Z-скор пула погодан за херд-левел процену метаболичког статуса. Наши резултати се слажу са раније објављеним резултатима. **Вредност Z-скора не показује знаке системског одступања у пулу у односу на Z-скор израчунатог просека, као и у односу на познату референтну вредности** (одступање Z-скора <2 за већину параметара, осим за оне који се драстично мењају у кетози). Овакав налаз потврђује могућност употребе Z-скора, јер системско одступање вредности у пулу узорка у односу на просек појединачних узорака чини употребу пула узорка мање употребљивом приликом доношења одлука. Погодност употребе Z-скора огледа се у чињеници да он има добру дискриминаторну способност између здравих и кетозних крава.

Табела – Концентрација метаболизма и Z-скор код здравих и кетозних крава

Metabolites	Ref. value	Ketotic				Healthy			
		Pooled conc.	Mean conc.	Zscore pool	Zscore mean	Pooled conc.	Mean conc.	Zscore pool	Zscore mean
BHB* (mmol/L)	0.68 ±0.29	1.59 ±0.35 ^A	1.64 ±0.32 ^A	3.17 ±1.22 ^a	3.3 ±1.1 ^a	0.85 ±0.13 ^B	0.85 ±0.13 ^B	0.57 ±0.45 ^b	0.57 ±0.45 ^b
NEFA (mmol/L)	0.5 ±0.23	0.84 ±0.16 ^A	0.85 ±0.17 ^A	1.49 ±0.72 ^a	1.52 ±0.75 ^a	0.51 ±0.14 ^B	0.52 ±0.14 ^B	0.06 ±0.6 ^b	0.08 ±0.61 ^b
TGC (mmol/L)	0.21 ±0.1	0.15 ±0.07 ^A	0.16 ±0.07 ^A	-0.56 ±0.66 ^a	-0.52 ±0.69 ^a	0.22 ±0.09 ^B	0.22 ±0.09 ^B	0.14 ±0.92 ^b	0.13 ±0.93 ^b
CHOL (mmol/L)	4.26 ±1.67	3.27 ±1.12 ^A	3.28 ±1.14 ^A	-0.59 ±0.67 ^a	-0.60 ±0.68 ^a	4.87 ±1.63 ^B	4.88 ±1.64 ^B	0.36 ±0.97 ^b	0.37 ±0.99 ^b
GLU (mmol/L)	2.61 ±0.76	2.56 ±0.72 ^A	2.61 ±0.72 ^A	-0.06 ±0.95 ^a	0.002 ±0.95 ^a	3.38 ±0.49 ^B	3.35 ±0.49 ^B	1.02 ±0.65 ^b	0.97 ±0.64 ^b
TPROT (g/L)	69.87 ±6.84	68.7 ±8.6 ^A	68.9 ±9.2 ^A	-0.17 ±1.3 ^a	-0.13 ±1.4 ^a	68.2 ±10.5 ^A	68.4 ±8.6 ^A	-0.21 ±1.6 ^a	-0.21 ±1.5 ^a
ALB (g/L)	32.36 ±5.12	34.1 ±4.5 ^A	33.5 ±4.5 ^A	0.33 ±0.88 ^a	0.22 ±0.92 ^a	40.1 ±6.2 ^B	39.8 ±6.2 ^B	1.51 ±1.2 ^b	1.45 ±1.21 ^b
Urea (mmol/L)	4.62 ±1.38	6.28 ±1.48 ^A	6.1 ±1.43 ^A	1.2 ±1.1 ^a	1.04 ±1.05 ^a	5.1 ±1.49 ^B	4.82 ±1.39 ^B	0.28 ±1.1 ^b	0.15 ±1.04 ^b
Ca (mmol/L)	2.26 ±0.31	2.26 ±0.26 ^A	2.23 ±0.21 ^A	0.08 ±0.69 ^a	-0.11 ±0.65 ^a	2.28 ±0.21 ^A	2.31 ±0.24 ^A	0.02 ±0.84 ^a	0.17 ±0.82 ^a
P (mmol/L)	2.07 ±0.4	2.31 ±0.37 ^A	2.37 ±0.37 ^A	0.62 ±0.93 ^a	0.76 ±0.93 ^a	2.72 ±0.44 ^B	2.69 ±0.47 ^B	1.63 ±1.1 ^b	1.57 ±1.17 ^b
TBil (μmol/L)	9.11 ±6.7	9.48 ±2.7 ^A	9.23 ±2.61 ^A	0.054 ±0.4 ^a	0.02 ±0.39 ^a	5.01 ±2.26 ^B	5.2 ±2.33 ^B	-0.61 ±0.35 ^b	-0.59 ±0.35 ^b
AST (IU/L)	113.5 ±48.25	84.4 ±34.4 ^A	88.42 ±36.5 ^A	-0.61 ±0.72 ^a	-0.52 ±0.76 ^a	36.8 ±12.7 ^B	35.5 ±12.6 ^B	-1.59 ±0.26 ^b	-1.62 ±0.26 ^b

*- Јединица мере односи се на средњу вредност узорка и израчунату средњу вредност појединачних узорака. Z-скор нема јединицу мере; A,B – Различити суперскрипти указују на разлике у концентрацији метаболита; a,b – Различити суперскрипти указују на разлике у Z-скоровима.

Сви одабрани метаболички параметри осим ТПРОТ и Са су показали значајно одступање између здравих и кетозних крава. Показано је да период лактације значајно утиче на вредности метаболита у пулованом узорку, а постоји статистички значајан разлика између здравог стада и стада које је било оптерећено метаболичким болестима као што је кетоза или млечна грозница. Разлике у вредностима метаболита између различитих здравствених категорија биле су најизраженије у раној лактацији, са чиме се поклапа и наш резултат. Исти аутор је нашао статистички значајне разлике за БХБ, НЕФА, ТБИЛ, АСТ, Са, Р, са чиме се поклапају наши резултати, али није утврдио статистички значајну разлику за ХОЛ. У нашем огледу концентрација БХБ је значајно виша код крава у кетози и линеарно се повећава са процентом кетозних узорака у пулованом узорку. БХБ је значајан у дијагностици субклиничке и клиничке кетозе, а развијен је велики број различитих тестова за његово одређивање, који потврђују да је овај метаболит од примарне важности у дијагностици кетозе. Поред наведеног пронађене су граничне вредности за НЕФА, ТБИЛ, ГЛУ и АСТ у дијагностици кетозе што потврђују њихов дијагностички или прогностички значај. Нижа концентрација АЛБ, ХОЛ и ТГЦ су знаци масне инфилтрације хепатоцита која често прати кетозу, јер настаје као резултат субцелуларног престојавања хепатоцита услед њиховог преоптерећења масним киселинама и кетонима у врло раној лактацији.



Корелација и регресија између Z скора средње вредности добијене калкулацијом и измереног пулаФигуре 3. Повезаност Z скора и % крава са кетозом које учествују у поолованом узорку (ориг.)

Статистички значајне разлике у вредности метаболита између здраве и кетозне групе крава добијене су поређењем средњих вредности, а претварањем тих средњих вредности у позициони Z-скор према истој референтној вредности коју смо користили у нашем огледу, закључујемо да су позиционе вредности сличне као у нашем истраживању. Са друге стране вредности Z-скора значајно корелирају са процентом кетозних крава у пулу. Због тога смо поставили потенцијалне референтне вредности за Z-скор пулованог узорка који указује на одређени % крава са кетозом у пулованом узорку. Резултати показују да се 95%CI референтни опсези Z-скора слабије преклапају (тј.више разликују) ако има 40-60% кетозних крава у пулу у односу на пулове у којима има 10-30% кетозних крава. Узимајући у обзир да се преваленција кетозе код крава креће у опсегу од 30 до преко 50%, то додатно потврђује потенцијал Z-скора пулованог узорка у детекцији присуства кетозе у стаду.

Измерене вредности метаболита у пулованом узорку и аритметичка средина вредности појединачних узорака у оквиру истог пула су готово идентичне, а Z-скор ове две групе резултата готово идеално корелирају, што потврђује могућност употребе пулованог узорка у процени метаболичког статуса крава. Вредност Z-скора метаболита пулованих узорака може се користити за разликовање здраве од кетозне популације крава. Постоји значајна разлика у вредности метаболита и Z-скор у из пулованих узорака направљених засебно од здравих и кетозних крава. Z-скор значајно корелира са % кетозних узорака у пулованом узорку. Употреба Z-скора пулованог узорка који садржи 10 појединачних узорака може бити користан и економичан начин у процени кетозе у стаду крава током ране лактације.

11. ЕКСТРАВАСКУЛАРНИ УЗОРЦИ У ВЕТЕРИНАРСКОЈ МЕДИЦИНИ

Екстраваскуларни узорци су биолошки **узорци који се узимају из ткива или течности које се налазе изван крвних судова** (васкуларног система). Ови узорци се користе у медицинским лабораторијама за анализе које захтевају испитивање телесних течности или ткива која нису директно повезана са крвним судовима. За разлику од васкуларних узорака, који долазе директно из крви (као што су узорци из вене или артерије), екстраваскуларни узорци долазе из других делова тела и често захтевају специфичне технике узимања узорка, као што су биопсија, пунктирање или аспирација. Узимање екстраваскуларних узорака је често захтевније и инвазивније од узимања крви, али даје кључне информације које нису доступне из крвних узорака, чиме помажу у постављању тачне дијагнозе.

Један од најчешћих типова екстраваскуларних узорака су узорци узети из ткива. Биопсија подразумева узимање узорака ткива из различитих органа као што су јетра, плућа, кожа и бубрези, како би се испитала присутност болести, попут рака или инфекција. Биопсије су кључне за прецизну дијагнозу, јер омогућавају директно испитивање хистолошке структуре ткива. У неким случајевима, користи се цито-биопсија, која подразумева узимање малих узорака ћелија из одређених органа за даљу анализу. Ова метода је корисна када је потребно брзо установити присуство малигних ћелија или инфекција. Ови узорци су предмет изучавања патолошке морфологије.

Постоји **више врста екстраваскуларних узорака** који обухватају течности које се налазе у организму. Урин је један од најчешће коришћених екстраваскуларних узорака и користи се за анализе функције бубрега, детекцију инфекција или болести попут дијабетеса. Уринарне анализе могу указивати на поремећаје у организму, као што су болести мокраћног система, бубрежна оштећења или метаболички проблеми. Серозне течности телесних шупљина, као што су плеурална течност (око плућа), перитонеална течност (око органа у трбуху) и перикардијална течност (око срца), узимају се у случајевима инфекција, малигних болести или упалних процеса. Анализом ових течности може се открити присуство бактерија, вируса или тумора у шупљинама тела, што омогућава дијагностику стања која нису директно повезана са крвним путем. Још један важан екстраваскуларни узорак је цереброспинална течност, која се узима из субарахноидног простора у окципиталној регији или леђној мождини и користи за дијагностику неуролошких болести, као што су менингитис, енцефалитис и друге болести централног нервног система. Анализа цереброспиналне течности помаже у процени стања мозга и кичмене мождине, омогућавајући идентификацију инфекција, упала или тумора. Синовијална течност, која се узима из зглобова, користи се за дијагностику артритиса и других болести зглобова. Промене у синовијалној течности могу указивати на присуство упалних процеса, инфекција или дегенеративних промена у зглобовима, што је корисно у процени стања код болова и ограничене покретљивости. Млеко, као екстраваскуларни узорак, посебно је корисно у ветеринарској медицини, где се користи за дијагностику маститиса (упале млечне жлезде) и процену нутритивног статуса животиња. Такође, анализа млека може помоћи у детекцији метаболичких поремећаја или болести које утичу

на производњу млека, као што су проблеми са исхраном или инфекције у млечним жлездама. Костна срж је значајан узорак у дијагностици хематолошких болести као што су леукемије, анемије, лимфоми и друго, а значајна је у токсикологији. Поред морфолошке анализе и потврде хематолошких болести, преглед костне сржи показује постојање узрока који доводе до различитих хематолошких проблема. Поред наведеног, пљувачка може бити користан узорак за анализе у дијагностици оралних болести, инфекција или генетских тестова. Пљувачка је такође корисна у неинвазивној процени стреса, јер у њој могу бити присутни хормони стреса, попут кортизола. Мерење кортизола у пљувачки омогућава процену стреса без потребе за инвазивним методама, што је посебно корисно у ветеринарској медицини за процену стреса код животиња. Брисови, који се узимају из носа, грла, вагине или ране, користе се за микробиолошке анализе, као што је детекција инфекција (бактерије, вируси, гљивице) или за генетска истраживања. На пример, брис из носа може помоћи у дијагностици респираторних инфекција, док брис из ране може открити присуство бактеријских узрочника, што је кључно за правилно лечење рана и инфекција. Узимање бриса је значајно за одређене цитолошке методе, а доминантно се користи у микробиолошкој дијагностици.

Екстраваскуларни узорци играју кључну улогу у дијагностици и праћењу здравља јер омогућавају анализу стања која нису директно повезана са крвним системом. Анализа ових узорака пружа важне информације за детекцију болести, метаболичких поремећаја, инфекција, као и за процену реакције организма на стрес или терапију. Помоћу њих могуће је прецизно пратити различите биолошке процесе, што помаже у постављању тачне дијагнозе и одабиру оптималног третмана.

Трансудат и ексудат

Лабораторијски преглед трансудата и ексудата је важан за дијагностику различитих патолошких стања која узрокују акумулацију течности у телесним шупљинама, као што су плеурална, перитонеална или перикардијална шупљина. Трансудат је течност која настаје услед поремећаја у равнотежи између хидростатског и онкоског притиска, без значајних промена у пермеабилности крвних судова, и најчешће је последица системских болести као што су конгестивно срчано затајење, цироза јетре или нефротски синдром. Карактеристике га низак ниво протеина (обично испод 3 г/дЛ), низак ниво ЛДХ, специфична гравитација мања од 1.012, бистар и светли изглед, те низак број ћелија, претежно лимфоцита. С друге стране, ексудат је течност која се појављује када дође до повећања васкуларне пермеабилности, обично као одговор на упалу, и карактеристичан је за локализоване инфекције, туморе и упалне процесе као што су плеуритис, перитонитис или артритис. Ексудат има висок ниво протеина (изнад 3 г/дЛ), повећан ниво ЛДХ, специфичну гравитацију већу од 1.020, обично мутан или са присуством честица изглед, као и висок број ћелија, укључујући неутрофиле, лимфоците, понекад еритроците или малигне ћелије. Лабораторијски тестови за ове течности обухватају проучавање физичких особина (боја, јасноћа, специфична гравитација), хемијске тестове (ниво протеина, ЛДХ, глукоза, pH вредност), ћелијски број и диференцијацију, а у случајевима инфекција и малигне сумње могу се урадити и микробиолошке анализе. Тестови за трансудате и ексудате омогућавају разликовање између системских и локалних узрока акумулације течности, а критеријуми попут Лајтова критеријума користе однос протеина и ЛДХ у течности и серуму за одређивање природе течности. Комбинацијом ових анализа,

лабораторијски прегледи трансудата и ексудата омогућавају правилну дијагнозу и адекватно планирање терапије за различите болести.

Преглед урина

Преглед урина је рутински лабораторијски тест који се користи за процену здравља организма, дијагностиковање различитих болести и праћење терапијских третмана. Овај тест може пружити важне информације о функцији бубрега, метаболизму, присуству инфекција, као и о другим здравственим проблемима. Преглед урина обухвата макроскопски, микроскопски и хемијски (реакцијски) преглед, који заједно омогућавају детаљну анализу урина и детекцију потенцијалних проблема у организму.

Типични налази у анализи урина укључују светложут, бистар урин без присуства крви, протеина, глукозе и бактерија. Повишена концентрација протеина може указивати на бубрежну болест, док присуство глукозе у урину често значи дијабетес. Повишена специфична тежина може указивати на дехидрацију, док ниска специфична тежина може указивати на проблеме са концентрацијом урина, као што је бубрежна инсуфицијенција. Крв у урину може бити знак инфекција, бубрежних каменаца или трауме.

Макроскопски преглед урина укључује процену боје, прозирности и мириса. Нормално, урин је светложут, али боја може варирати у зависности од хидратације – тамни урин може указивати на дехидратацију. Урин може постати црвен или смеђи услед присуства крви или билирубина, што може бити знак озбиљних здравствених проблема. Прозирност урина је такође важан параметар – нормалан урин је обично бистар, док замућење може указивати на присуство леукоцита, бактерија, кристала, слузи или других нечистоћа. Мирис урина такође може бити индикатор одређених метаболичких поремећаја или инфекција. На пример, мирис ацетона може указивати на дијабетес.

Микроскопски преглед урина се користи за анализу честица које се налазе у урину, као што су леукоцити, еритроцити, бактерије, кристали и цилиндри. Повишен број белих крвних зрнаца може указивати на инфекцију мокраћног система, као што су циститис или пиелонефритис. Присуство црвених крвних зрнаца може указивати на хематурију, што може бити узроковано инфекцијама, камењем, траумама или болестима бубрега. Такође, присуство бактерија може указивати на уринарну инфекцију, док кристали у урину често сигнализирају присуство камена у мокраћном систему. Најчешће врсте кристала укључују оксалатне, уратне и фосфатне кристале. Цилиндри који се формирају у тубулима бубрега, могу указивати на оштећење бубрега или бубрежну болест.

Хемијски преглед урина обухвата мерење различитих параметара, укључујући рН вредност, специфичну тежину, протеине, глукозу, кетоне, билирубин, уробилиноген, нитрате и леукоцитну естеразу. пХ вредност урина мери његову киселост или алкалност, а нормална пХ вредност је око 6, иако може варирати између 4.5 и 8 зависно од врсте исхране, болести и стреса. Специфична тежина урина даје информације о способности бубрега да концентрирају или разблажују урин. Нормалне вредности су између 1.005 и 1.030. Присуство протеина у урину може указивати на оштећење бубрега, јер здрави бубрези обично не пропуштају велике количине протеина. Глукоза у урину обично указује на неконтролисани дијабетес, док кетони могу бити присутни код особа са дијабетесом, оних који су на дијетама са ниским уделом угљених хидрата или када је тело у стању поста. Билирубин у урину може указивати на болест јетре или жучне путеве, док повишен

уробилиноген може бити знак хемолизе или болести јетре. Присуство нитрата може указивати на бактеријску инфекцију мокраћног система, док леукоцитна естераза, ензим присутан у белим крвним зрнцима, може указивати на упалу или инфекцију мокраћног система. Преглед урина је користан за дијагностиковање инфекција мокраћног система, као што су циститис и пиелонефритис, као и за процену функције бубрега и праћење болести бубрега. Такође, овај тест може помоћи у детекцији метаболичких поремећаја, као што су дијабетес, кроз анализу глукозе и кетона у урину. Промене у урину могу указивати на поремећаје у многим системима тела, чинећи преглед урина корисним за процену општег здравља. Такође, овај тест је важан за праћење лекова и третмана, јер неки лекови и терапије могу изазвати промене у саставу урина које треба пратити.

Повећани кортизол-креатинин однос указује на могућу хиперадреналнокутицизам (Цушингов синдром), који је често резултат прекомерне продукције кортизола од стране надбубрежних жлезда. Ово стање може бити узроковано аденомом надбубрежне жлезде, хипофизним аденомом или екстраадреналним извором кортизола. Такође, повећање може бити узроковано стресом, инфекцијама, болестима или повредама, што чини тест подложним варијацијама. Стресне ситуације могу довести до повишених нивоа кортизола, па је важно ове тестове радити када је животни циклус животиње стабилан и без стреса. Са друге стране, низак кортизол-креатинин однос указује на нормалну функцију надбубрежних жлезда и њихову способност да регулишу производњу кортизола. Такође, низак однос може указивати на хипокортицизам (адисонова болест), али овај поремећај се чешће дијагностикује другим тестовима.

Повећани протеин-креатинин однос указује на присуство протеина у урину, што може бити знак бубрежне болести, као што су гломерулонефритис, бубрежна амилоидоза или хронична бубрежна болест (ЦКД). Гломерулонефритис је воспаление гломерула бубрега који може довести до губитка протеина, док бубрежна амилоидоза подразумева наслагане протеине у бубрезима који оштећују филтрацију. У раним фазама хроничне бубрежне болести, овај однос може указивати на оштећење бубрега пре него што се клинички симптоми постану видљиви. Повећан протеин-креатинин однос такође може бити знак других болести као што су инфекције, дијабетес, хипертензија или изложеност токсичним супстанцама. Са друге стране, низак протеин-креатинин однос указује на одсуство или веома ниске нивое протеина у урину, што значи да не постоји значајно оштећење бубрега и да је функција бубрега вероватно нормална. Стога, ова два теста играју кључну улогу у раној дијагностици и праћењу бубрежних и других физиолошких поремећаја код паса и мачака.

Кристали у урину код паса и мачака могу бити присутни у физиолошким и патолошким стањима, а њихово присуство може указивати на предиспозицију за формирање камена (уролитиазу) или на нормалне варијације у исхрани и метаболизму. Струвитни кристали, који су прозирни и безбојни, најчешће су повезани са инфекцијама уринарног тракта у алкалној средини, док калцијум оксалатни кристали, који се јављају у облику ди- и монохидрата, могу указивати на предиспозицију за оксалатну уролитиазу или на тровање етилен гликолом. Уратни кристали, попут амонијум биурата, жутосмеђег облика, често су повезани са обољењима јетре или генетском предиспозицијом код одређених раса. Цистински кристали, шестоугаоног облика, указују на наследне метаболичке поремећаје попут цистинурије, док билирубински кристали, који су жуто-смеђи и игластог облика, могу бити присутни у концентрованом урину код паса, али и указивати на обољења јетре или хемолизу. Калцијум карбонат кристали су уобичајени код

биљоједа, али се ретко јављају код паса и мачака, док холестеролски кристали, правоугаоног облика, могу бити повезани са ћелијским оштећењем или стагнацијом урина. Аморфни кристали, који имају зрнаст изглед, могу бити аморфни фосфати у алкалном урину или аморфни урати у киселом урину и обично се сматрају нормалним, али понекад указују на предиспозицију за формирање камена. Сулфамидни кристали, игластог облика, често су повезани са употребом сулфа лекова и могу повећати ризик од кристалурије. Присуство кристала у урину код паса и мачака може бити нормално или патолошко, у зависности од врсте кристала, рН урина и клиничке слике, а анализа кристала игра важну улогу у дијагностици уринарних поремећаја, као и у откривању потенцијалних узрока уролитиазе, метаболичких болести или токсичности.

Цилиндри у урину паса и мачака представљају формације које се појављују у урину, а настају услед згушњавања протеина унутар тубула у бубрезима. Ови цилиндри могу бити различитих врста и могу имати дијагностички значај у оцени функције бубрега и присуства болести. Хијални цилиндри су најчешћи тип, састављени су од протеина из бубрежних тубула и могу бити присутни у малим количинама у нормалном урину, али ако их има више, могу указивати на дегидратацију, оштећење бубрега или гломерулонефритис. Грануларни цилиндри садрже делимично разградјене ћелије и указују на оштећење бубрежних тубула, често повезано са акутним или хроничним оштећењем бубрега. Воскасти цилиндри су дугуљasti и имају воскасти изглед, јављају се код хроничних оштећења бубрега и могу бити знак тешке бубрежне инсуфицијенције. Еритроцитни цилиндри садрже црвене крвне ћелије и указују на гломерулонефритис, оштећење капиlara бубрега или крварење у мокраћним тубулима. Леукоцитни цилиндри садрже беле крвне ћелије и указују на упалу у бубрезима или мокраћним путевима, као што је пијелонефритис или циститис. Епителни цилиндри садрже ћелије бубрежног епитела и указују на акутно оштећење тубула, као код акутног тубуларног оштећења. Бактеријски цилиндри садрже бактерије и обично су присутни код уринарних инфекција. Дијагностички значај цилиндра у урину је велики, јер повећана количина хијалних цилиндра може указивати на проблеме као што су дегидратација, инфекција или бубрежна болест, док грануларни и воскасти цилиндри указују на оштећење бубрега. Еритроцитни цилиндри указују на присуство крви у урину, што може бити знак бубрежних болести или тумора, док леукоцитни цилиндри често указују на инфекције. Епителни цилиндри сугеришу на акутно оштећење бубрега или инфекцију. Анализа цилиндра је важна за дијагнозу бубрежних болести и инфекција мокраћног система, а додатни тестови, као што су крвни тестови, ултразвук или биопсија, могу бити потребни за потврду дијагнозе.

Припрема за преглед урина обично није захтевна, али је препоручљиво користити први јутарњи урин, јер је концентрација супстанци у том урину највиша. Такође, важно је да се урин сакупља у стерилну посуду како би се избегла контаминација из спољног окружења. Цистоцентеза може бити поступак избора када је потребно добити урин са смањеним ризиком од контаминације спољашњим бактеријама.

Преглед урина је једноставан, али изузетно користан тест који може помоћи у дијагностици многих здравствених стања. Он омогућава рано уочавање знакова инфекција, метаболичких поремећаја, болести бубрега и других стања, често и пре него што пацијент почне да осећа симптоме.

Преглед цереброспиналне течности

Преглед цереброспиналне течности (ЦСТ) је лабораторијски тест који се користи за процену стања централног нервног система (ЦНС), укључујући мозак и кичмену мождину. Цереброспинална течност (ЦСТ) је бистра течност која се налази у просторима око мозга и кичмене мождине, као и унутар њих, где има кључну улогу у заштити, исхрани и уклањању отпадних материја. Анализа ЦСТ-а пружа важне информације у дијагностици различитих неуролошких и инфективних болести.

Преглед цереброспиналне течности је често неопходан у следећим случајевима: инфекције ЦНС-а, као што су менингитис, енцефалитис, абцеси; неуролошке болести попут мултипле склерозе, тумора ЦНС-а, неуродегенеративних болести; субарахноидно крварење, када се детектује крв у цереброспиналној течности у случају крварења у простору између мозга и мембрана које га окружују; дијагностика аутоимуних болести, као што су системски лупус еритематозус или неуросаркоидоза; и праћење терапије код болесника са неуролошким обољењима, као што су мултипла склероза, или пацијената који примају третман за инфекције ЦНС-а.

Лумбална пункција (спинална пункција) је поступак у којем се цереброспинална течност узима из простора око кичмене мождине, обично у лумбалном делу кичме, између 4. и 5. лумбалног пршљена. Током овог поступка, игла се пажљиво уводи између пршљенова у субарахноидни простор, где се узима узорак ЦСФ-а. Овај поступак се обично изводи под локалном анестезијом. Може се вршити и узимање из окципиталне регије, што је описано на крају овог дела.

Макроскопски преглед цереброспиналне течности обухвата анализу боје, прозирности и присуства било каквих нечистоћа. Нормално, ЦСФ је бистра и безбојна. Промене у боји могу указивати на различите поремећаје: замућење може указивати на повишен број леукоцита, што може бити последица упале или инфекције; присуство крви може указивати на субарахноидно крварење или крварење из трауме; док жућкаст урин може указивати на разградњу хемоглобина, што се дешава у случају крварења у ЦНС-у. Хемијски преглед се односи на анализу концентрације протеина, глукозе и лактата. Нормално, ЦСФ садржи ниске концентрације протеина. Повећана концентрација протеина може указивати на упалу, као што је менингитис, туморе или абсцесе у ЦНС-у, или мултиплу склерозу. Глукоза у цереброспиналној течности је обично 60-70% концентрације глукозе у крви. Низак ниво глукозе може указивати на бактеријски менингитис, док је ниво глукозе нормалан ако постоји вирусни менингитис или аутоимуне болести. Повећан ниво лактата може указивати на хипоксију или метаболичку ацидозу у ЦНС-у, као што је случај код бактеријског менингитиса.

Микроскопски преглед укључује анализу присуства леукоцита, еритроцита и микроорганизама. Нормално, ЦСФ треба да садржи врло мало леукоцита. Повећан број леукоцита може указивати на инфекције, као што су бактеријске, вирусне, гљивичне или паразитске, као и на упалне болести, као што је мултипла склероза. Присутност црвених крвних зрнаца може указивати на субарахноидно крварење или трауму током пункције. Такође, могу се приметити гљиве, бактерије или паразити, у зависности од инфекција. Цитолошки преглед помаже у дијагностици малигних болести, попут тумора ЦНС-а или метастаза. Узорци за микробиолошки преглед, као што су микробиолошка култура на бактерије, гљиве или вирусе, користе се за идентификацију патогена код инфекција ЦНС-а.

Нормалне вредности цереброспиналне течности обухватају боју која је бистра и безбојна, концентрацију протеина од 15-45 mg/dL, глукозу од 50-80 mg/dL (око 60-70% концентрације у крви), мање од 5 леукоцита/ μ L, без присуства еритроцита у нормалним околностима, и лактат мањи од 25 mg/dL.

Абнормални налази могу укључивати повећану концентрацију протеина, што може указивати на упалу, аутоимуне болести, или неуролошке поремећаје као што су мултипла склероза или тумор. Низак ниво глукозе, који се често јавља у бактеријском менингитису, док је у вирусном менингитису обично нормалан. Повишени леукоцити, који указују на упалу или инфекцију у ЦНС-у, посебно у случају бактеријског менингитиса где број леукоцита може бити знатно повишен, док је код вирусног мању. Такође, присуство крви може указивати на субарахноидно крварење или повреду приликом пункције.

Узимање цереброспиналне течности (ЦСТ) из окципиталне јаме код паса обично се врши када се жели добити узорак течности за дијагностику неуролошких болести, инфекција или упала које утичу на централни нервни систем (ЦНС). Овај поступак је познат као окципитална (или атланта-окципитална) пункција, јер се узорак течности узима из простора око кичмене мождине у окципиталној регији, где се мозак спаја са кичменом мождином. За разлику од лумбалне пункције, која се изводи на нивоу лумбалних пршљенова, окципитална пункција захтева прецизније позиционирање, јер се игла уводи између прве цервикалне кости (атлас) и окципиталне кости, у простор где се налази цереброспинална течност. Овај поступак се обично изводи под општом анестезијом, јер је потребна потпуност опуштања животиње, а такође, позиција пса је кључна како би се обезбедила тачност узимања узорка. Иако је окципитална пункција ефикасна у прикупљању цереброспиналне течности за лабораторијске анализе, овај поступак носи и одређене ризике, као што су оштећење живаца или кичмене мождине, те стога захтева стручност и искуство ветеринара. Узимање узорка из овог дела тела омогућава анализу различитих параметара, као што су број леукоцита, концентрација протеина, глукозе, и присуство микроорганизама, што може помоћи у дијагностицирању стања попут менингитиса, енцефалитиса, тумора или инфекција које утичу на ЦНС.

Преглед синовијалне течности

Преглед синовијалне течности је лабораторијски тест који се користи за дијагностику и праћење болести зглобова и других обољења која утичу на синовијалне течности. Синовијална течност је вискозна, провидна течност која подмазује зглобове, омогућавајући глатко кретање костију унутар зглобова и храни хрскавицу. Анализом синовијалне течности може се добити важно сазнање о узроку упале, бола или отечености у зглобовима.

Преглед синовијалне течности обично се врши код пацијената који имају симптоме као што су бол у зглобовима, отеченост или упала у зглобовима, повећана температура и црвенило у зглобу, сумња на инфекцију (септички артритис), упалну болест (као што је реуматоидни артритис) или дегенеративне болести (као што је остеоартритис). Такође, користи се када постоји сумња на камење у зглобовима (гихт), или за праћење стања након трауме или повреде зглоба.

Синовијална течност се узима путем артроцентезе, што је поступак у којем се игла уводи у зглобну шупљину, обично под локалном анестезијом. Узорак се најчешће узима из великих зглобова, попут колена, лакта, раменог зглоба, или зглобова руку и ногу.

Анализа синовијалне течности обухвата неколико параметара. Први параметар је макроскопски преглед боје течности. Нормална синовијална течност је бистра и светло жуте боје. Промене у боји могу указивати на различита обољења: замућеност може указивати на присуство инфламаторних ћелија (леукоцита) или кристала; црвенкаста или смеђа боја може указивати на крварење у зглобу; док жућкаста боја може указивати на упалне процесе попут артритиса или гихта. Вискозност синовијалне течности је такође важан параметар, јер нормално треба да буде вискозна и лепљива, што омогућава добру подмазаност зглоба. Смањена вискозност може указивати на дегенеративне болести зглобова као што је остеоартритис или на упалне процесе.

Леукоцити (бела крвна зрнца) се такође анализирају у синовијалној течности. Нормално, синовијална течност садржи врло мало леукоцита (мање од 200 ћелија/ μ L), а повећање броја леукоцита може указивати на инфекцију зглоба (септички артритис) или упалу (нпр. реуматoidни артритис). Повећање броја леукоцита, посебно са преовлађујућим неутрофилима, може бити знак инфекције, док повећање са преовлађујућим лимфоцитима може указивати на упалне болести. Присутност еритроцита (црвених крвних ћелија) може указивати на крварење у зглобу, што може бити последица трауме, хемофилије, артритиса или инфекција.

Кристали у синовијалној течности могу указивати на специфичне болести. Кристали мокраћне киселине могу бити присутни у случају гихта, док кристали калцијум пирофосфата указују на псеудогихт. Кристали холестерола се могу појавити у случајевима хроничних упалних процеса. Такође, микроскопски преглед може открити присуство бактерија, гљива или вируса у случају инфекција зглобова, а протеини се анализирају како би се утврдила повезаност са упалним процесима или дегенеративним променама. Низак ниво протеина може указивати на неупалне болести или дегенеративне промене, док повишени нивои протеина могу указивати на упалне процесе.

Концентрација глукозе у синовијалној течности је обично слична концентрацији у крви. Низак ниво глукозе може указивати на инфекцију (нпр. септички артритис) или упалу. Нормалне вредности синовијалне течности укључују боју која је бистра и светло жута, вискозност која је висока, број леукоцита мањи од 200 ћелија/ μ L, и нема присуства еритроцита или кристала.

Абнормални налази укључују повећан број леукоцита, што може указивати на инфекцију или упалу, присуство кристала мокраћне киселине што указује на гихт, кристале калцијум пирофосфата који указују на псеудогихт, присуство бактерија што може указивати на септички артритис, те присуство крви које може указивати на трауму, хемофилију, хеморагијски артритис или инфекцију.

Преглед плеуралног излива

Преглед плеуралног излива је лабораторијски тест који се користи за дијагностику стања која узрокују накупљање течности у плеуралном простору — простору између два слоја плеуре (мембране која окружује плућа и облаже унутрашњост грудног коша). Плеурални излив може бити резултат различитих болести, укључујући инфекције, упале, туморе, срчане проблеме или друге поремећаје. Преглед плеуралног излива помаже у одређивању узрока тог изливања течности и у планирању одговарајуће терапије.

Индикације за преглед плеуралног излива:

- Отежано дисање или бол у грудима.

- Кратак дах (диспнеја), посебно ако је праћен боловима у грудима.
- Упала плућа која се шири на плеурални простор.
- Сумња на туморе у плућима или плеури (нпр. плеурални мезотелиом или метастазе).
- Хроничне болести срца које могу довести до накупљања течности у плеуралном простору.
- Инфекција која изазива плеуритис (упалу плеуре).
- Повреда грудног коша која изазива крварење у плеурални простор.

Метод узимања плеуралне течности: За узимање плеуралне течности обично се користи торакоцентеза - поступак у којем се игла или катетер користи за аспирацију (узимање) течности из плеуралног простора. Овај поступак се најчешће врши под локалном анестезијом и уз употребу рендгенског надзора или ултразвука како би се тачно одредило место за пункцију.

Параметри у анализи плеуралног излива:

1.Макроскопски преглед:

Плеурална течност може имати различите боје, што може помоћи у одређивању узрока излива: Прозирна или светло жута: Може указивати на трансудат (течност која настаје услед општег повећања притиска у крвним судовима, као што је случај код срчаних болести или хроничног затајења бубрега). Замућена или млечна: Може указивати на присуство лимфе (лимфни изливи), што је карактеристично за лимфоме или туморе. Крвава течност: Може указивати на хемоторакс (крварење у плеурални простор), што се може десити услед трауме, малигних болести (метастазе), или поремећаја коагулације. Зелена или црна: Може указивати на присуство гноја (гнојни плеурални излив, познат као емпијем).

2.Хемијски преглед:

Протеини: Мерење нивоа протеина у плеуралној течности помаже у разликовању трансудата (ниски нивои протеина) од ексудата (високи нивои протеина). Трансудат: Низак ниво протеина (мање од 3 g/dL) је обично повезан са срчаним затајивањем, хијаталном хернијом, или поремећајем бубрега. Ексудат: Виши ниво протеина (више од 3 g/dL) је обично повезан са упалом или инфекцијама, као што су плеуритис, пнеумонија или тумори.

Лактат дехидрогеназа (ЛДХ): Повећање нивоа ЛДХ у плеуралној течности може указивати на упалу или туморске процесе.

Глукоза: Снижени ниво глукозе у плеуралној течности може указивати на инфекцију или туморе. Такође, ниске вредности глукозе могу бити присутне у случајевима емпијема (гнојни излив).

3.Микробиолошки преглед:

Културе и бојење по Граму: У циљу идентификације бактерија, гљива или других микроорганизама који могу узроковати плеуралну инфекцију (нпр. пнеумонија која се шири на плеурални простор).

ПЦР тестирање: Користи се за детекцију одређених микроорганизама, као што су вируси (нпр. туберкулоза, херпесвирус или вируси инфлуенце).

4.Цитолошки преглед:

Анализа ћелија у плеуралној течности може помоћи у дијагностици тумора или малигних болести. Малигни тумор (нпр. плеурални мезотелиом или метастазе из других органа, попут плућа или дојке) може изазвати накупљање течности у

плеуралном простору. Цитолошки преглед може открити неопластичне ћелије у течности.

5. pH вредност:

Низак pH (мање од 7.2) у плеуралној течности може указивати на инфекцију, посебно емпуем или гнојни плеурални излив. Такође, низак pH може бити присутан у случајевима малигних болести.

Нормалне вредности плеуралног излива:

- Боја: Бистра или светло жута.
- Протеини: Мање од 3 g/dL (трансудат).
- ЛДХ: Мање од 200 U/L (трансудат).
- Глукоза: Слична концентрацији глукозе у крви.
- pH: 7.6-7.8 (ако је течност нормална).
- Леукоцити: Мање од 100 ћелија/ μ L, без доминантних типова ћелија.

Абнормални налази:

- Повишени нивои протеина (више од 3 g/dL) и ЛДХ: Указују на ексудат, што је обично повезано са инфекцијама (плеуритис, емпијем), туберкулозом, малигним туморима (плеурални мезотелиом, метастазе) или аутоимуним болестима.
- Крвава течност: Може указивати на хемоторакс, што може бити резултат трауме, тумора или поремећаја коагулације.
- Низак ниво глукозе: Може указивати на емпуем или туморе.
- Замућена или млечна течност: Може указивати на лимфни излив (нпр. код лимфома).
- Висок број леукоцита (преко 1.000 ћелија/ μ L): Повећан број белих крвних зрнаца може указивати на инфекцију, као што је септички плеуритис или туберкулоза.

Преглед перитонеалног излива

Преглед перитонеалног излива је лабораторијски тест који се користи за анализу течности која се накупља у перитонеалној шупљини, која је простор унутар абдомена између паријеталне (унутрашње) и висцералне (спољашње) перитонеалне мембране. Ова течност може бити последица различитих стања, укључујући инфекције, упале, трауме, болести јетре, срца, туморе и многе друге болести.

Преглед перитонеалног излива обично се врши када пацијент има симптоме као што су: Бол у стомаку (абдоминални бол), Повећање стомака (асцитес), Губитак тежине, умор, повишена температура или лоше опште стање, Сумња на инфекцију у трбушној шупљини (нпр. перитонитис), Сумња на малигнитет у трбушним органима (нпр. метастазе у трбушну шупљину), Цироза јетре, срчано затајење, рак или повреда абдомена.

За узимање перитонеалне течности користи се поступак назван парацентеза. Парацентеза је процедура у којој се игла или катетер користи за аспирацију (узимање) течности из трбушне шупљине. Поступак се обично врши под локалном анестезијом и уз помоћ ултразвука како би се прецизно лоцирао течност у трбушној шупљини.

Параметри у анализи перитонеалног излива:

Макроскопски преглед:

Боја:

Прозирна или светло жута: Нормална течност у асцитесу изазвана срчаним затајавањем, цирозом јетре или бубрежним проблемима.

Замућена течност: Може указивати на присуство гноја или инфекцију (перитонитис).

Крвава течност: Може указивати на крварење у трбушној шупљини, што може бити резултат трауме, повреде или тумора.

Млечна течност: Млечни изглед може указивати на лимфни излив (ако је присутна лимфа), што је често у случају лимфома или блокаде лимфних судова.

Мирис:

Обично није присутан мирис, али ако течност има непријатан мирис, то може указивати на гнојну инфекцију.

Хемијски преглед:

рН:

Низак рН (мање од 7,0) у перитонеалној течности може указивати на гнојне инфекције (емпијем перитонеума), док виши рН може бити повезан са малигним обољењима или перитонитисом.

Протеини:

Трансудат: Ако је ниво протеина у течности низак (мање од 3 g/dL), обично је повезан са срчаним затајењем, цирозом или бубрежним болестима.

Ексудат: Ако је ниво протеина висок (више од 3 g/dL), то обично указује на упални процес или инфекцију и перитонитис или на постојање карцинома и метастаза.

Лактат дехидрогеназа (ЛДХ):

Повећање нивоа ЛДХ може указивати на упалу или туморе у трбушној шупљини.

Глукоза:

Нормално, ниво глукозе у перитонеалној течности је сличан оном у крви.

Снижени нивои глукозе могу указивати на перитонитис (посебно у случају бактеријског перитонитиса), малигни тумор или туберкулозу.

Амилаза:

Повећање нивоа амилазе може указивати на панкреатитис или повреде панкреаса.

Микробиолошки преглед:

Култура: Култура перитонеалне течности се користи за идентификацију бактерија, гљива или вируса. У случају бактеријског перитонитиса или инфекција, бактерије могу бити присутне у течности.

Бојење по Граму: Брза метода за идентификацију микроорганизама. Детекција грам-позитивних или грам-негативних бактерија може помоћи у идентификацији инфекција.

ПЦР тестирање: Користи се за детекцију специфичних микроорганизама, као што су вируси или микобактерије (нпр. туберкулоза).

Цитолошки преглед:

Малигни тумори: Ако се сумња на присуство тумора у перитонеалној шупљини (нпр. метастазе из плућа, млека или гастричног карцинома), цитолошки преглед може помоћи у детекцији туморских ћелија у перитонеалној течности.

Присутност ћелија инфламације: Повећање броја белих крвних зрнаца, посебно неутрофила, може указивати на бактеријску инфекцију.

Нормалне вредности перитонеалног излива:

Боја: Прозирна, светло жута.

Протеини: Мање од 3 g/dL (трансудат).

ЛДХ: Мање од 200 U/L (трансудат).

Глукоза: Слична концентрацији глукозе у крви.

Амилаза: Нормално, низак ниво.

pH: 7,4-7,5 (ако је течност нормална).

Леукоцити: Мање од 300 ћелија/ μ L, претежно лимфоцити.

Абнормални налази:

Повишени нивои протеина (више од 3 g/dL): Указују на ексудат, што је обично повезано са инфекцијама, перитонитисом, малигним туморима или аутоимуним болестима.

Крвава течност: Може указивати на трауму или тумор (нпр. хепатом или рак панкреаса).

Замућена течност: Може указивати на гнојну инфекцију (емпијем).

Млечна течност: Указује на лимфни излив, често узрокован блокадом лимфних судова или лимфомима.

Снижени ниво глукозе: Може указивати на перитонитис, малигне болести или туберкулозу.

Повишен број леукоцита: Указује на инфекцију, посебно бактеријски перитонитис.

Преглед костне сржи

Преглед костне сржи је дијагностичка процедура која се користи за процену здравља коштане сржи, органа одговорног за производњу крвних ћелија. Овај тест је кључан за дијагностиковање различитих хематолошких поремећаја, укључујући анемију, леукемију, лимфому, апластичну анемију, хемоглобинопатије и друге болести које утичу на крвне ћелије. Преглед костне сржи може помоћи у процени производње крвних ћелија, присуства абнормалних ћелија и других патолошких промена које могу указивати на болест или дисфункцију коштане сржи.

За преглед костне сржи обично се користи поступак познат као аспирација костне сржи, који подразумева узимање узорка коштане сржи из кости, најчешће из струма (кости куку) или из стернума (кости у предњем делу грудног коша). Поступак се обично изводи под локалном анестезијом, а узорак се потом анализира микроскопски. Понекад се користи и биопсија костне сржи, што подразумева узимање малог узорка ткива костне сржи, како би се добиле детаљније информације о структури и функцији коштане сржи.

Микроскопски преглед узорка костне сржи омогућава анализу бројних параметара. Прво, броји се број и тип крвних ћелија – црвених крвних зрнаца, белих крвних зрнаца и тромбоцита. Такође се процењују морфолошке карактеристике ових ћелија, што може указивати на присуство било каквих абнормалности, као што су ненормалне форме или незреле ћелије које се обично не налазе у циркулацији. Овај преглед може указати на различите хематолошке поремећаје као што су леукемија, лимфоми, или синдроми повезаних са смањеном производњом крвних ћелија.

Друштво коштане сржи такође пружа важне информације о броју и дистрибуцији прекурсора крвних ћелија, што може бити корисно у дијагностици апластичне анемије, као и у праћењу одговора на терапију код пацијената са хемато-онколошким болестима.

Поред тога, може се анализирати присуство страних ћелија, инфекција, метастаза или других патолошких промена које могу бити повезане са малигним болестима или хематолошким поремећајима.

Једна од кључних индикација за извођење прегледа костне сржи је сумња на хематолошке поремећаје који се не могу дијагностиковати само анализом крви. То укључује случајеве са необјашњивим анемијама, тромбоцитопатијама, леукоцитозама или леукопенијама, као и када постоји сумња на малигнитет или инфективне болести које захватају коштану срж.

Преглед костне сржи може помоћи у праћењу и постављању дијагнозе у случајевима када је потребно утврдити узрок повишених или снижених нивоа крвних ћелија, као и у процени ефикасности третмана код пацијената са хематолошким обољењима. На пример, код пацијената са леукемијом, преглед костне сржи се користи како би се пратила реакција на терапију и проценила евентуална ремисија или прогресија болести.

Закључно, преглед костне сржи је веома важан у дијагностици и праћењу многих хематолошких болести. Иако је поступак инвазиван, његова улога у откривању основних узрока поремећаја у крвној слици, као и у праћењу терапијског одговора, чини га незамењивим алатком у медицинској пракси.

Патолошки налази аспирата коштане сржи могу значити различите болести и стања која утичу на производњу крвних ћелија. Овај тест омогућава детаљну анализу морфологије крвних ћелија, прекурсора, као и других структурних и функционалних промена које могу указивати на озбиљне хематолошке и системске болести. Неки од патолошких налаза аспирата коштане сржи у различитим болестима укључују:

1. Леукемија: Леукемија је малигни поремећај који утиче на производњу белих крвних зрнаца. У аспирату коштане сржи, леукемија може показати значајан број абнормалних, незрелих леукоцита (бластичних ћелија) који се налазе у циркулацији, чиме се смањује број нормалних крвних ћелија. У акутној леукемији, може се приметити доминација бласта који не сазревају, док код хроничне леукемије може бити присутна већа концентрација зрелих, али функционално абнормалних леукоцита. У неким случајевима, може доћи до инфилтрације костне сржи малигним ћелијама које могу смањити производњу других типова крвних ћелија, укључујући црвене крвне ћелије и тромбоците.

2. Апластична анемија: Апластична анемија је стање у којем долази до смањења производње свих типова крвних ћелија због оштећења коштане сржи. У аспирату коштане сржи, може се приметити смањење или потпуни изостанак хематопоетских ћелија (црвених крвних зрнаца, белих крвних зрнаца и тромбоцита), уз присуство повећаног броја масног ткива, што указује на "хупопласију" или "аплазију" коштане сржи.

3. Мијелодиспластични синдром (МДС): Мијелодиспластични синдром је група болести које доводе до неправилног сазревања крвних ћелија, што може изазвати смањење броја функционалних крвних ћелија. У аспирату коштане сржи, може се приметити присуство абнормалних прекурсора (бласта), као и промене у морфологији хематопоетских ћелија, попут неправилних облика или неадекватног сазревања. Такође, може бити присутан повишен број незрелих и функционално неактивних ћелија.

4. Мијелопролиферативне болести: Мијелопролиферативни поремећаји, као што су полицитемија вера, есенцијална тромбоцитемија и примарна миелофиброза, обухватају болести у којима коштану срж производи прекомерне количине једне или више врста крвних ћелија. У аспирату костне сржи, може доћи до значајног повећања броја ћелија,

посебно еритроцита, тромбоцита или неутрофила. У неким случајевима, може бити присутна и фиброзна промена у коштаном сржи, што указује на напредовање болести, као што је примарна миелофиброза.

5. Метастазе малигних тумора: Метастазе из других органа (као што су дојке, плућа, простате) могу захватити коштану срж, узрокујући инфилтрацију малигним ћелијама. У аспирату костне сржи, могу се видети ћелије које потичу од оригиналног тумора, као и промене у структури и морфологији коштане сржи, укључујући смањење броја нормалних крвних ћелија. Метастазе могу смањити функционалност коштане сржи и ометати производњу крвних ћелија.

6. Инфекције коштане сржи: Инфекција коштане сржи може бити узрокована бактеријама, гљивицама или вирусима. У аспирату коштане сржи, може доћи до присуства патогених организама, као што су бактерије (нпр. *Staphylococcus aureus*), или гљивице, уз повећање броја леукоцита који покушавају да се боре против инфекције. Такође, може доћи до смањења броја других крвних ћелија због потрошње ресурса у борби против инфекције.

7. Хематолошке болести услед отровних супстанци: Отровне супстанце, као што су хемотерапија или излагање токсичним материјама (нпр. бензен), могу оштетити коштану срж и узроковати смањење броја крвних ћелија. У аспирату коштане сржи могу бити присутне промене у морфологији крвних ћелија, смањење броја ћелија или поремећаји у сазревању, што може указивати на аплазију или хипопластичну срж.

8. Хемоглобинопатије: Хемоглобинопатије, као што је српаста анемија или таласемија, могу изазвати промене у морфологији црвених крвних зрнаца у аспирату коштане сржи. Код српасте анемије, може се приметити присуство српастих ћелија, док код таласемије могу бити присутни микротичне, хипокромне црвене крвне ћелије које указују на поремећај у синтези хемоглобина.

9. Фиброза коштане сржи: Фиброза коштане сржи, која може бити последица различитих стања, као што су примарна миелофиброза или као секундарни процес услед других болести, доводи до замењивања хематопоеетског ткива влакнастим ткивом. У аспирату коштане сржи може се приметити повећање фибротичне компоненте, смањење броја хематопоеетских ћелија и повећана васкуларизација.

Патолошки налази аспирата коштане сржи пружају кључне информације које помажу у дијагностиковању широког спектра хематолошких болести и обољења, као и у праћењу напретка болести и одговора на лечење.

Сперма - биохемијски преглед

Сперма је комплексна течност која садржи сперматозоиде и плазму, а њена биохемија значајно варира међу различитим врстама. Анализа биохемијског састава сперме пружа увид у функционални статус репродуктивног система, а поремећаји у саставу могу указивати на патолошке процесе. Кључни биохемијски параметри укључују протеине, ензиме, јоне, енергенте (попут глукозе и фруктозе), липиде и антиоксидансе.

Бикови - Нормалан састав: Семинална плазма садржи висок ниво фруктозе, цитрата и простагландина. Ензими попут алкалне фосфатазе (АЛП) и лактат-дехидрогеназе (ЛДХ) су кључни маркери функције додатних жлезда. Калцијум и магнезијум су важни за покретљивост сперматозоида. Поремећаји: Смањење фруктозе указује на инсуфицијенцију семенских жлезда. Повишени АЛП може бити знак оштећења епидидимиса. Лоша

антиоксидативна заштита повећава пероксидацију липида у мембранама сперматозоида, што води смањењу плодности.

Вепрови - Нормалан састав: Семинална плазма је богата енергентима (фруктоза и глукоза) и антиоксидансима попут глутатиона. Протеини специфични за свињу помажу у стабилизацији сперматозоида. Поремећаји: Низак ниво глукозе може утицати на смањење покретљивости. Оштећења додатних жлезда се манифестују као повећана активност ЛДХ и смањење протеина у семиналној плазми.

Пси - Нормалан састав: Богата протеазама, цитратом и калцијумом. Нивои простагландина су високи, а алкална фосфатаза се користи као маркер интегритета простате. Поремећаји: Простатитис може изазвати повећање АЛП и смањење цитрата. Лош квалитет сперме повезан је с оксидативним стресом и повећањем малондиалдехида.

Мачја сперма - Нормалан састав: Садржи фруктозу и високе нивое протеина. Калцијум и натријум су кључни за покретљивост сперматозоида. Поремећаји: Повећање протеаза може указивати на инфламацију додатних жлезда. Лоша антиоксидативна заштита доводи до пероксидације липида.

Коњска сперма - Нормалан састав: Фруктоза и цитрат су главни енергенти, док су простагландини присутни у нижим концентрацијама. Семинална плазма има високу антиоксидативну активност. Поремећаји: Смањење фруктозе може бити последица инсуфицијенције додатних жлезда, док повећање ЛДХ указује на оштећење епидидимиса.

Овце и козе - Нормалан састав: Фруктоза и глукоза су доминантни енергенти. Магнезијум и калцијум играју кључну улогу у покретљивости сперматозоида. Поремећаји: Смањење фруктозе указује на проблеме са семенским жлездама, док повећана активност ензима може указивати на инфламацију.

Перад - Нормалан састав: Семинална плазма има низак ниво фруктозе, али висок ниво глукозе. Антиоксиданси су од пресудног значаја за очување квалитета сперме. Поремећаји: Смањена активност антиоксидативних ензима води оштећењу сперматозоида оксидативним стресом.

Егзотичне врсте и рептили - Нормалан састав: Енергетски метаболити и јони варирају зависно од врсте. Поремећаји: Оксидативни стрес и промене у јонима попут калцијума и натријума могу значајно утицати на покретљивост.

Биохемијски састав сперме одражава здравље репродуктивног система животиња. Одступања у кључним параметрима, попут нивоа фруктозе, глукозе, ензима и антиоксиданаса, често указују на патолошке процесе у додатним жлездама, епидидимису или тестисима, што може негативно утицати на плодност. Лабораторијске анализе сперме су кључне за дијагностику и праћење репродуктивног здравља код различитих врста.

Преглед буражног садржаја

Анализа садржаја бурага или анализа буражне течности представљају кључни дијагностички алат у ветеринарској медицини који се користи за процену здравља и функционалности бурага (једног од четири дела желуца) код преживача (као што су говеда, овце, козе). Бурага игра кључну улогу у ферментацији, разградњи биљног материјала и апсорпцији хранљивих материја. Анализирање буражног садржаја помаже у дијагностици разних поремећаја варења, метаболичких дисбаланса, инфекција и проблема у вези са исхраном.

Анализа буражног садржаја користи се за: дијагностику пробавних поремећаја као што су руминална ацидоза, алкалоза и дисбактериоза (микробни дисбаланс), процену здравља бурага и ефикасности ферментације (што је важно за бољу искористивост хране), праћење микробиома и постојање инфекција или прерастања бактеријске и гљивичне флоре, идентификацију метаболичких поремећаја као што су кетоза, надутост и атонија бурага, откривање токсина (као што су они из покварене или контаминираних хране), евалуацију ефеката промена у исхрани или ефикасности третмана.

Буражни садржај се обично узима помоћу једне од следећих метода: а) Руменоцентеза- Техника у којој се игла или трокар убацује у бурагу кроз леву страну трбуха како би се извадио узорак флуида. Ова метода је инвазивна, али омогућава прецизно узимање узорка, посебно у случајевима сумње на озбиљне пробавне сметње; б) Орогастрична сонда- Мање инвазивна метода која укључује уметање сонде кроз уста и једнак до бурага за узимање флуида. Ова метода се често користи за рутинску дијагностику; ц) Фистула бурага- Хируршки отвор на бураги који се користи за честу сакупљање буражног садржаја. Ова метода је чешће примењена у истраживачким условима.

Анализа буражног садржаја укључује процену физичких, хемијских и микробних карактеристика узорка.

1. Физичко испитивање буражног садржаја:

Боја:

Нормална боја: Светло смеђа до зелена, што одражава здраву ферментацију влакнастих биљака.

Тамно смеђа или црна: Може указивати на инфекцију, некрозу или токсичне уносе.

Црвена или розе: Може указивати на крварење или гастроинтестинално крварење.

Млечна: Често се повезује са надутостју бурага или субклиничком ацидозом.

Мирис:

Нормално: Благо кисео, али не непријатан.

Непријатан мирис: Може указивати на инфекцију, стасис бурага или руминалну ацидозу.

Вискозитет:

Нормална течност: Требало би да буде течна, али донекле вискозна.

Вискозна или густа: Може указивати на лоше варења или прекомерни раст бактерија.

Превише воденаста: Може указивати на лошу ферментацију, наглу промену исхране или малапсорпцију.

Присуство страних материја:

Нормално: Нема видљивих страних материја.

Абнормално: Присуство неневарених честица хране, биљних влакана или контаминаната може указивати на лошу функцију бурага или гастроинтестиналну стасис.

2. рН буражног садржаја:

Нормални рН: рН здраве бурага обично је између 6,0 и 7,0, што указује на благо киселу до неутралну средину.

Ацидоза:

рН < 5,5: Указује на руминалну ацидозу (често због прекомерног уноса брзо ферментирајућих угљених хидрата, као што су житарице).

pH < 5,0: Озбиљна ацидоза, са потенцијалним ризиком од улкуса бурага и системске токсичности

Алкалоза:

pH > 7,5: Виши pH може указивати на руминалну алкалозу, што може бити изазвано прекомерним уносом алкалне хране или одређеним третманима.

3. Микробиолошки преглед буражног садржаја:

Буражни садржај садржи различите микроорганизме, укључујући бактерије, протозое и гљивице, који играју кључну улогу у ферментацији и варењу.

Бактерије: Бурага садржи широк спектар микробиоте, са око 10^{10} до 10^{11} бактерија по милилитру буражног флуида. Неке кључне бактерије укључују:

Фибролитичке бактерије (нпр. *Fibrobacter succinogenes* и *Ruminococcus albus*) које разграђују биљна влакна.

Амилитичке бактерије (нпр. *Streptococcus bovis*) које разлажу скроб.

Бактерије млечне киселине: Повећан број ових бактерија може довести до ацидозе.

Протозое: Протозое помажу у ферментацији и одржавању микробиолошке равнотеже.

Нормални нивои: Обично између 50.000 и 1.000.000 протозоа по милилитру.

Смањени или одсутни протозои: Могу указивати на лошу функцију бурага или висок ниво стреса.

Гљивице: Гљивице у буражном садржају обично су у малим количинама, али њихов број може расти ако постоји субоптимално варење влакана.

Ова микробиолошка анализа може се извршити помоћу микроскопије или култивационих техника.

4. Хемијска анализа буражног садржаја:

Volatile fatty acids – испарљиве масне киселине (ВФА): ВФАс су крајњи продукти ферментације угљених хидрата и главни извор енергије за преживаче. Главни ВФА су ацетат, пропионат и бутират.

Нормални односи: Типичан ВФА профил је ацетат > пропионат > бутират.

Ацидоза: Повећана концентрација млечне киселине у односу на ВФА може указивати на руминалну ацидозу.

Лактат: Високе концентрације млечне киселине могу указивати на руминалну ацидозу или лактатну ацидозу, што може довести до системских метаболичких поремећаја.

Амонијак (NH_3): Амонијак је нуспроизвод разградње протеина у бурагу.

Нормални нивои: Обично између 100-150 mg/dL.

Високи нивои амонијака: Могу указивати на прекомерну разградњу протеина, што може бити знак преоптерећења бурага, протеинске токсичности или проблема са јетром.

Укупна чврста тела: Виши нивои чврстих честица могу указивати на лоше варење или проблем са буражним микроорганизмима.

Протеини: Високи нивои протеина могу указивати на прекомерну ферментацију или дисбаланс у синтези микробиолошког протеина.

5. Присуство токсина:

Токсини као што су микотоксини из контаминираних хране (нпр. плесан у силажи или сено) могу утицати на буражни садржај. Детекција ових токсина захтева специјализоване тестове као што су ЕЛИСА или течна хроматографија.

Чести поремећаји дијагностиковани анализом буражног садржаја:

Руминална ацидоза: Узрокована прекомерним уносом брзо ферментирајућих угљених хидрата, што доводи до пада рН бурага (<5,5), смањених нивоа ВФА и промене микробиолошке популације према бактеријама које производе млечну киселину.

Руминална алкалоза: Ређе, обично изазвана прекомерним уносом алкалних супстанци или лошом ферментацијом. Одликује се вишим рН (>7,0) и смањеном микробиолошком активношћу.

Руминална дисбактериоза: Микробни дисбаланс због промена у исхрани, коришћења антибиотика или стреса који омета нормалну ферментацију бурага, што доводи до смањења сварљивости хране и потенцијално до системских болести.

Кетоза: Честа у млечних крава током раног лактацијског периода. Повећане концентрације кетонских тела (нпр. ацетона) у бурагу и крви, са смањеним нивоима ацетата и пропионата, указују на негативан енергетски биланс.

Надутост: Узрокована накупљањем гасова у бурагу. Прекомерно пењење или мехурићи у буражном садржају могу указивати на пенасту надутост услед ферментације одређених врста хране.

Токсини: Присуство токсичних супстанци (као што су микотоксини, биљни токсини или иританти бурага) може ометати ферментацију и довести до болести.

Млеко као узорак у процени метаболичког статуса и здравља крава

Главне хранљиве компоненте млека су протеини, лактоза и масти. Ове компоненте млека и њихова биолошка расположивост човеку издвајају млеко као значајну хранљиву материју. Млечна жлезда врши активно метаболисање протеина, угљених хидрата и масти како би се обезбедила њихова довољна количина у млеку. Млеко представља фину емулзију масти у правом раствору шећера и соли и колоидном раствору беланчевина. Аминокиселине се апсорбују кроз базалну мембрану преко система транспортних аминокиселина. У ћелијама се аминокиселину везују у протеине у полизомима на гранулисаном ендоплазматичном ретикулуму. Протеини синтетисани у ендоплазмаичном ретикулуму укључују протеине који се секретују (протеини млека, казеин, бета-лактоглобулин, алфа-лактоглобулин) и протеина везаних за мембрану (протеини за остваривање ћелијског контакта и ензими везани за мембрану). Новосинтетисани протеини из ендоплазматичног ретикулума одлазе у Голџијев апарат где се припремају за даљи транспорт из ћелије, а ту се одвијају и посттранслационе модификације. Голџијев апарат на својој површини формира пуполке, који се претварају у секретоне кесице - везикуле преко којих се транспортују и луче протеини, тако што кесице бивају транспортоване до апикалног дела мембране алвеоларне ћелије, када се спаја са унутрашњом површином ћелијске мембране, стварајући отвор за пролаз садржаја везикула. На овај начин се врши стварање пре свега казеина уз утрошак енергије. Глукоза улази у ћелију преко базалне и латералне мембране. Глукоза се може конвертовати у галактозу која улази заједно са глукозом у пут стварања лактозе. Претварање глукозе у лактозу се врши у Голџијевом апарату. Формирана лактоза, као хидроскопна материја увлачи велике количине воде у Голџијев апарат, која постаје део млека. Лактоза се секретује преко секреторних везикула. Прекурзори за синтезу млечне масти такође се могу унети кроз базолатералну мембрану. Најважнији прекурзори у синтези млечне масти

су ацетат и бета-хидроксибутират. Поред овога као прекурсори млечне масти се користе и глицерол и масне киселине. Сви ови прекурсори служе за синтезу триглицерида млечне масти, који се стварају на гранулисаном ендоплазматичном ретикулуму и транспортују се до апикалног дела ћелије где бивају пуштене у лумен алвеола млечне жлезде. Обим наведених метаболички процеса у млечној жлезди је познати и израчунат, како за почетак тако и за крај лактације. Закључено је да је продукција свих материја у млеку много интензивнија у раној лактацији у односу на крај лактације, што се огледа у значајно већој продукцији материја у микомолима у минуто током ране лактације.

За процену енергетског статуса крава могу се користити појединачни узорци млека крава у раној лактацији у којима се одређује концентрација масти, протеина, лактозе и урее, као и њихов међусобни однос. Познате су следеће квантитативне комбинације: А) концентрација урее мања од 4 mmol/L, а концентрација протеина већа од 32 g/L (3,2%), значи да су краве оптимално снабдеване протеинима и енергијом obroka; Б) концентрација протеина и даље повећана и тај пораст прати и пораст концентрације урее у млеку (изнад 4 mmol/L) то значи да у obroку има вишак протеина; В) концентрација урее изнад 4 mmol/L, а концентрација протеина мања од 32 g/L (3,2%) то значи да у исхрани крава постоји релативни суфицит протеина; Г) концентрација урее испод 4 mmol/L а концентрација протеина мања од 32 g/L (3,2%) то значи да краве не добијају путем obroka довољно ни енергије ни протеина; Д) концентрација протеина у млеку виша од 32 g/L (3,2%), а масти између 35 и 45 g/L (3,5-4,5%), значи да су краве у стању уравнотеженог енергетског баланса. концентрација масти млека повећава, а концентрација протеина млека смањује, то значи да су краве у израженијем негативном енергетском билансу на почетку лактације и стога покрећу сопствене резерве масти да би надокнадиле енергетски дефицит. То резултира повећањем масних киселина у крвотоку, које се користе као прекурсори за липогенезу у млечној жлезди; Ђ) концентрација масти и протеина млека мања од 35 (3,5 %) односно 32 g/L (3,2 %) то значи да краве нису храњене у складу са производним потребама.

Испитана је концентрација значајних ензима у крви и млеку. Резултати показују да нема статистички значајног одступања у вредности ензима у крви и млеку у различитим периодима лактације, а није утврђена корелација између активности ензима у крви и млеку. У овом огледу је коришћено 12 крава у анализи. Међутим у резултатима који су добијени на знатно већем броју животиња показано је да постоји корелација између активности ензима у крви и млеку. Како су ензими значајни у процени функционалног статуса јетре, одређивање ензима у млеку би могао бити занимљив неинвазивни индикатор у процени метаболичког статуса крава.

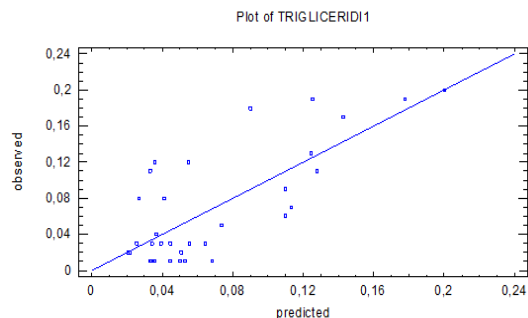
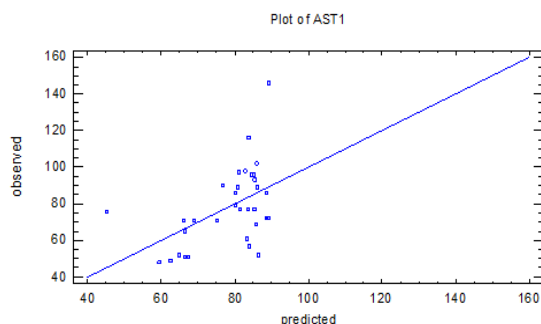
Помоћу параметара из млека може се одредити активност АСТ и концентрација билирубина у крви. Иако постоји статистички значајан налаз регресионих модела, потребно је да се изврши практична валидација оваквих налаза на фармама и код крава у различитом периоду лактације, различитог производног капацитета и здравственог статуса вимена.

$$\text{ASTkrv} = -23,6729 + 13,5714 \cdot \text{Mleko mast} + 0,273858 \cdot \text{Mleko proteini} + 9,31391 \cdot \text{Mleko urea}$$

$$p < 0,05; R^2 = 25\%$$

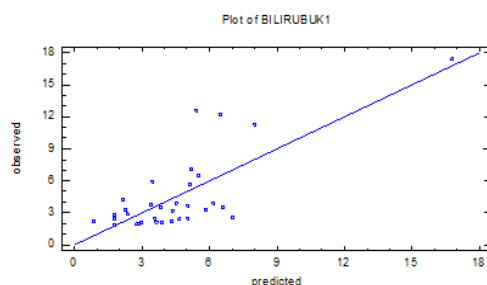
$$\text{Trigliceridi krv} = 0,407647 - 0,0364672 \cdot \text{Mleko mast} + 0,00851914 \cdot \text{Mleko proteini} - 0,043767 \cdot \text{Mleko urea}$$

$$P < 0,01; R^2 = 57\%$$



$$\text{Bilirubin krv} = 15,007 + 0,00204796 \cdot \text{Mleko Ca} + 0,0677263 \cdot \text{Mleko Mg} - 0,00668435 \cdot \text{Mleko P} - 2,33308 \cdot \text{Mleko mast} + 62,7566 \cdot \text{Mleko proteini} - 396,895 \cdot \text{Mleko azot} - 0,6867 \cdot \text{Mleko urea} + 0,0208921 \cdot \text{Mleko AST} - 0,0204511 \cdot \text{Mleko ALT} - 0,000382435 \cdot \text{Mleko ALP}$$

$$p < 0,01; R^2 = 57\%$$



Регресиона анализа одређивања АСТ, билирубина и триглицерида у крви помоћу параметара из млека (ориг.)

Наша истраживања показују да се одређивање БХБ у млеку крава квантитативном методом може одредити постојање субклиничке кетозе на фармама крава. Дистрибуција фреквенције концентрације БХБ у крви и млеку дата је на графиконима. Концентрација БХБ у крви је 10-15 пута већа од њене концентрације у млеку. Квантитативно одређивање БХБ у млеку има висок значај и одређивању субклиничке кетозе јер се са веома високом сигурношћу може тврдити да краве болују од субклиничке кетозе ако је концентрација БХБ у млеку већа од 0.080 mmol/L (80 μmol/L).

У огледу је извршено одређивање 15 одабраних метаболита у млеку. Методом најважнијих компонената и парцијалне корелације утврђено је који су метаболити најважнији у процени енергетског биланса крава. Узорци млека сакупљени су у 2. и 7. недељи након тељења код 31 музних крава. За сваку краву, енергетски биланс је израчунат из уноса енергије, особина производње млијека и тјелесне тежине. Укупно је детектовано 52 метаболита млека помоћу LC-QQQ-MS методе трипл квадриполне масене спектрометрије. Подаци из различитих недеља лактације анализирани су парцијалном анализом најмањих квадрата, а 15 најзначајнијих варијабли из података метаболомике везаних за енергетски биланс коришћени су за развој редукованих линеарних модела за

процену енергетског баланса напредном регресијом избора. Принос млечне масти, глицин, холин и карнитин биле су важне варијабле за процену енергетског биланса ($R^2 = 0,53$ до $0,87$, у зависности од модела).

Постоји значајна корелација између параметара млека и параметара крви, што зависи од периода лактације. Једна наша студија имала је за циљ да одреди метаболите крви и млека и њихове корелације ради процене метаболичког статуса код млечних крава. Узорци крви и млека узети су од 100 млечних крава расе Холштајн током јутарње муже. Краве су подељене у четири групе према периоду лактације, укључујући краве у раној ($n=18$), пуној ($n=26$), средњој ($n=25$) и касној ($n=31$) лактацији. Одређене су вредности неестерификованих масних киселина (НЕФА), β -хидроксибутирата (БХБ), глукозе, триглицерида (ТГ), укупног холестерола (ТЦхол), укупних протеина (ТП), албумина, глобулина, урее, укупног билирубина (ТБил), аспартат-аминотрансферазе (АСТ), аланин-аминотрансферазе (АЛТ), алкалне фосфатазе (АЛП), гама-глутамил-трансферазе (ГГТ) и лактат-дехидрогеназе (ЛДХ) у крви. У млеку су мерени следећи параметри: маст, протеини, лактоза, уреа, АСТ, АЛТ, АЛП, ГГТ, ЛДХ и БХБ. Серумске вредности НЕФА, БХБ, ТБил, АСТ, АЛТ, АЛП и ЛДХ биле су повишене код крава у раној лактацији, док су нивои глукозе, ТП, глобулина и урее били значајно нижи код тих крава. Нивои млечне масти и лактозе били су нижи код крава у раној лактацији, док су млечни протеини и активности АСТ, АЛТ, АЛП и ЛДХ у млеку били значајно виши код истих крава. Млечна маст је била позитивно корелисана са нивоима глукозе, ТП и ТГ, а негативно са нивоима БХБ, НЕФА, ТБил, АЛТ, ЛДХ и АЛП у крви. Активности ензима у млеку биле су позитивно корелисане са онима у крви, као и са нивоима НЕФА, БХБ и ТБил у крви, док су биле негативно корелисане са глукозом, ТЦХОЛ и ТГ у крви. Постојала је значајна позитивна корелација између вредности БХБ у крви и млеку. Многе корелације имале су сличан образац током свих периода лактације. Закључно, сличне промене концентрације метаболита у крви и млеку током лактације, као и корелације између млека и крви, потврђују да млеко има велики потенцијал за предвиђање метаболита у крви и метаболичког статуса крава.

12.ЛАБОРАТОРИЈСКА ДИЈАГНОСТИКА КРОЗ ПАРАМЕТРЕ

У овом поглављу уџбеника биће описани најчешћи лабораторијски параметри и поремећаји који се срећу у ветеринарској медицини. Обухваћено је нешто више од 150 лабораторијских параметара у различитим физиолошким и патофизиолошким условима, а материја је груписана у 98 делова:

1. Албумини
2. Албумин/глобулин (А/Г) количник
3. Аланин аминотрансфераза (АЛТ)
4. Алкална фосфатаза (АЛП)
5. Амилаза
6. Амонијак
7. Аспартат аминотрансфераза (АСТ)
8. Анемије
9. Ацидобазни статус
10. Базофилија
11. Базопенија
12. Бета-хидроксибутират (БХБ)
13. Билирубин
14. Билирубин директни и индиректни
15. Витамини
16. Гама-глутамил трансфераза (ГГТ)
17. Гвожђе (Fe), TIBC, UIBC, трансферин, феритин, TS%
18. Генске болести (одабрани маркери)
19. Глукоза
20. Гликолизирани хемоглобин (HbA1c)
21. Глутамат-дехидрогеназа (ГЛДХ)
22. Дисеминована интраваскуларна коагулација (ДИК)
23. Електрофореза протеина
24. Еозинофилија
25. Еозинопенија
26. Еритроцити
27. Жучне киселине
28. Имунодефицијенције код животиња
29. Имуноглобулини (Ig)
30. Имунофенотипизација леукемија
31. Инклузије у крвним ћелијама
32. Инсулин
33. Калијум (K)
34. Калцијум (Ca)
35. Крвне групе животиња и посттрансфузијске реакције
36. Комплемент
37. Креатин киназа (ЦК)
38. Креатинин
39. Криоглобулини
40. Лактат
41. Лактат дехидрогеназа (ЛДХ)

42. Ламинин
43. Леукоцитарна формула
44. Леукоцитоза
45. Леукопенија
46. Леукемије
47. Лимфоцитоза
48. Лимфопенија
49. Липопротеини
50. Липаза
51. Магнезијум (Mg)
52. Малонил диалдехид (МДА)
53. Матрикс металопротеиназе (ММПс)
54. Метхемоглобин
55. Моноцитоза
56. Моноцитопенија
57. Микроелементи - цинк (Zn), бакар (Cu), јод (J), селен (Se), манган (Mn), кобалт (Co) и флуор (F)
58. Мокраћна киселина
59. Н-ацетил- β -Д-глукозаминдаза (НАГ)
60. Натријум (Na)
61. Неутрофилија
62. Неутропенија
63. Неестерификоване масне киселине (НЕФА)
64. НТ-проБНП (N-terminal prohormone brain natriuretic peptide)
65. Орнитин карбамоил трансфераза (ОКТ)
66. Осмоларност серума
67. Параоксоназа (ПОН)
68. Полицитемија
69. Паратхормон (ПТХ)
70. Полни хормони
71. Протеини акузне фазе
72. Протеини укупни
73. Ретикулоцити
74. Симетрични диметиларгинин (SDMA)
75. Сорбитол дехидрогеназа (СДХ)
76. Тромбоцитоза
77. Тромбоцитопенија
78. Тромбоеластографија (ТЕГ)
79. Тровања код животиња
80. Тропонин I кардиоспецифични (сTnI)
81. Тумор маркери
82. Триглицериди
83. Трипсин-Like Имунореактивност (TLI)
84. Уреа
85. Фактори коагулације (недостатак)
86. Фибриноген
87. Фон Вилебрандов фактор (vWF)
88. Фосфор (P)
89. Фруктозамин
90. Хематокрит и еритроцитни индекси (MCV, MCH, MCHC)
91. Хистограм крвних ћелија
92. Хемостазни поремећаји и њихова дијагностика

93. Хиперсензитивне реакције
94. Холестерол
95. Хлориди (Cl⁻)
96. Хормони тиреоидне жлезде
97. Хормони надбубрега
98. Ц-пептид

Албумини су најзаступљенији протеини у серуму код већине сисара и играју кључну улогу у одржавању онкотског притиска, транспорту молекула (масних киселина, хормона, лекова, јона метала) и детоксикацији организма. Њихова концентрација варира међу врстама и зависи од фактора као што су старост, исхрана, физиолошко стање и здравствено стање. Код паса, нормалне концентрације албумина у крви су између 26 и 40 g/L, док су код мачака нешто ниже, у распону од 22 до 38 g/L. Коњи имају албумине у распону од 27 до 41 g/L, с већим значајем овог протеина у одржавању циркулаторне хомеостазе. Говеда имају ниже концентрације албумина, обично између 28 и 35 g/L, због већег удела глобулина у укупним протеинима. Код птица, концентрација албумина је значајно нижа него код сисара, обично између 10 и 25 g/L, што је последица специфичних метаболичких захтева ове групе животиња. Поремећаји нивоа албумина у крви укључују хипоалбуминемију, која се јавља код смањене синтезе протеина (због болести јетре, хроничне инфламације или потхрањености), повећаног губитка протеина (кроз урин код нефропатије, или кроз гастроинтестинални тракт код ентеропатија) или разређења плазме услед хиперхидрације. Хипоалбуминемија може довести до едема и асцитеса услед смањења онкотског притиска. Хипералбуминемија је ретка и најчешће је последица дехидрације, где се концентрација албумина релативно повећава услед смањеног волумена плазме. Права хипералбуминемија је изузетно ретка, јер је производња албумина строго регулисана.

Албумин/глобулин (А/Г) количник представља однос између концентрације албумина и глобулина у серуму и пружа важне информације о равнотежи између ове две главне фракције протеина у крви. Нормалне вредности А/Г количника варирају међу врстама: код паса и мачака обично се крећу између 0,8 и 1,2; код коња од 0,6 до 1,0; код говеда и оваца од 0,4 до 0,8; код птица од 0,5 до 1,5; а код рептила се широко разликују и обично се крећу између 0,3 и 1,5, зависно од врсте и физиолошког стања. Смањен А/Г количник (хиперглобулинемија) најчешће указује на повећање глобулинске фракције, што је често последица хроничних инфламаторних процеса, имунолошких поремећаја (нпр. аутоимуних болести) или неоплазија попут мултиплог мијелома или лимфома. Такође, смањење А/Г количника може настати и услед селективног губитка албумина код нефротског синдрома, ентеропатија с губитком протеина или хроничних јетрених болести, где је синтеза албумина ослабљена. Повећан А/Г количник може се јавити услед релативног или апсолутног смањења глобулина, што се виђа код имунодефицијенција (нпр. урођених или стечених поремећаја имуног система) или акутних инфламаторних стања, где још није дошло до значајног пораста глобулина. Код паса и мачака, смањен А/Г количник често указује на хроничне инфекције (нпр. FIV/FELV код мачака) или имунолошке поремећаје попут системског еритемског лупуса. Код коња, ниска вредност А/Г количника може указивати на инфекцију или протеин-губитне ентеропатије, док код говеда и оваца често сигнализира присуство паразитских болести или инфламаторних

стања. Код птица, промене у А/Г количнику могу се повезати с инфекцијама попут аспергилозе, док код рептила вредности зависе од основних метаболичких поремећаја, нутритивног статуса или инфекција.

Аланин аминотрансфераза (АЛТ) је ензим присутан у цитоплазми ћелија, првенствено хепатоцита, и ослобађа се у крвоток при оштећењу јетре. Код неких врста, АЛТ је специфичнији маркер за јетру него код других. Његова клиничка примена, као и значај повишених вредности, зависи од врсте животиње.

Пси и мачке - АЛТ је примарни показатељ оштећења јетре код паса и мачака, јер је највише изражен у хепатоцитима. Повишене вредности АЛТ указују на:

Хепатитис (инфективни, токсични или имуномедијовани).

Неоплазије јетре или метастазе у јетри.

Хепатичну липидозу (чешће код мачака).

Тровања лековима или токсинима (нпр. парацетамол, афлатоксини).

Трауматске повреде јетре или билијарног система.

Коњи - Код коња АЛТ није специфичан за јетру и мање се користи у дијагностици болести јетре. Углавном се ослањају на ензиме попут гама-глутамил трансферазе (ГГТ) или аспартат аминотрансферазе (АСТ) за процену функције јетре. Међутим, АЛТ може указивати на генерализовано оштећење ткива.

Говеда и овце - Као и код коња, АЛТ није јетрено специфичан ензим код преживара, јер се у значајним количинама налази и у другим ткивима. За дијагностику болести јетре код ових животиња чешће се користе АСТ и ГГТ. АЛТ се може повећати код:

Кетозе и масне јетре.

Хепатитиса изазваног токсинима или инфекцијама.

Паразитских инфекција које оштећују јетру (нпр. фасциолоза).

Свиње - АЛТ се користи за процену оштећења јетре код свиња, али је често праћен другим параметрима. Повишене вредности могу бити повезане с:

Тровањима (нпр. афлатоксини).

Вирусним инфекцијама које утичу на јетру (нпр. хепатитис Е).

Метаболичким стресом или лошим условима држања.

Птице - Код птица АЛТ се користи као показатељ оштећења јетре, али није потпуно специфичан. Повећања се јављају код:

Инфективних болести које погађају јетру (нпр. вирусни хепатитис).

Тровања токсинима или лековима (нпр. микотоксини).

Метаболичких поремећаја услед неадекватне исхране.

Рептили - АЛТ код рептила такође није специфичан за јетру и може указивати на оштећење других ткива. Његове вредности расту код:

Системске инфекције.

Хроничног метаболичког стреса.

Тровања или лоших услова држања.

АЛТ је најкориснији као маркер оштећења јетре код паса и мачака, док код других врста његова специфичност варира и често се интерпретира у комбинацији с другим ензимима. Повишене вредности АЛТ захтевају додатну дијагностику како би се утврдио тачан узрок и захваћени органи. Уколико је вредност АЛТ двоструко или више повећана од горње референтне вредности потребно је допунским дијагностичким методама

испитати морфолошки статус јетре. Корисно је испитати пре и постпрандијалне концентрације жучних киселина, као АЛП и билирубин.

Алкална фосфатаза (АЛП) је ензим који се налази у различитим ткивима, укључујући јетру, кости, црева и плаценту. Његова активност у крви је важан лабораторијски параметар за процену функције јетре, костију и метаболичких процеса. Референтне вредности и значај повећања АЛП зависе од врсте животиње и старосне доби.

Пси - Код паса, АЛП је значајан маркер за:

Холестазу: Повећање АЛП често указује на застој жучи.

Кортикостероидно-индуковану АЛП: Пси имају специфични изоензим који се повећава под утицајем кортикостероида. Кушингова болест.

Болести јетре: Хепатобилијарна неоплазија, хепатитис или цироза могу повећати АЛП.

Болести костију: Код младих паса повећање АЛП може бити последица раста костију.

Мачке - Код мачака је АЛП мање специфичан и мање се повећава него код паса. Повећања се обично повезују са:

Холестазом: Хепатична липидоза је чест узрок повећања АЛП код мачака.

Неоплазијама: Тумори јетре или билијарног система.

Метаболичким болестима: Хипертироидизам може узроковати благо повећање АЛП.

Коњи - Код коња, АЛП је мање специфичан маркер за холестазу у поређењу с другим параметрима (ГГТ). Повећања су повезана са:

Болестима јетре: Холангиохепатитис или масна јетра.

Болестима црева: Ентеритис или стања с повећаном апсорпцијом.

Метаболичким болестима: Дисфункција јетре услед токсина или инфламаторних процеса.

Говеда - Код говеда, АЛП је користан у дијагностици:

Болести јетре: Фасциолоза (метиљи) и бактеријски хепатитис.

Метаболичких болести: Постпартална масна јетра или кетоза.

Болести костију: Раст младих животиња или метаболичке поремећаје костију.

Свиње - Код свиња, АЛП се користи за праћење:

Болести јетре: Вирусне инфекције, попут хепатитиса Е, и токсична оштећења јетре.

Раста костију: Код младих свиња повећање је нормално.

Метаболичких поремећаја: Недостатак микроелемената, попут цинка.

Птице - Код птица, АЛП се користи за процену:

Болести јетре: Хепатитис изазван токсинима или инфекцијама.

Болести костију: Повећање АЛП код птица које расту или код оних с метаболичким болестима костију (нпр. недостатак калцијума).

Неправилне исхране: Лоша исхрана може утицати на метаболизам минерала и ензима.

Рептили - Код рептила, АЛП се користи као мање специфичан маркер. Повећања могу указивати на:

Болести јетре: Застој жучи, инфекције или токсичне промене.

Болести костију: Метаболичке болести костију због недостатка УВ светла или калцијума.

АЛП је значајан лабораторијски параметар код различитих животињских врста, али је његова интерпретација често условљена старошћу, врстом и основним метаболичким процесима. Код младих животиња, повећање АЛП је обично повезано с растом, док је код одраслих повезан с болестима јетре, билијарног система или костију.

Амилаза је ензим који разграђује угљене хидрате и присутна је претежно у панкреасу и пљувачним жлездама, иако се у мањој мери може наћи у цревима, јетри и јајницима. Ниво амилазе у крви и урину значајан је параметар у дијагностици поремећаја пробавног система, посебно панкреаса. Код паса и мачака, нормалне вредности амилазе у серуму варирају, при чему пси обично имају нешто више концентрације од мачака. Код преживача, као што су говеда и овце, амилаза има мањи дијагностички значај јер њихова исхрана базирана на влакнима смањује потребу за интензивном активношћу овог ензима. Код коња, ниво амилазе је генерално нижи у поређењу с моногастричним врстама, док је код свиња сличан људима. Код птица и рептила, амилаза се мање користи у дијагностичке сврхе, али абнормалности у њеном нивоу могу указивати на дисфункцију панкреаса или јетре.

Повишене вредности амилазе (хиперамилаземија) најчешће су повезане са панкреатитисом, посебно код паса, где је овај ензим значајан маркер за инфламацију панкреаса. Осим панкреатитиса, повишене вредности могу настати због опструкције панкреасног канала, бубрежне инсуфицијенције (због смањеног излучивања амилазе путем бубрега), гастроинтестиналних обољења, као што су перфорација црева или интусусцепција, и трауме абдомена. Код мачака, повишене вредности амилазе нису специфичне за панкреатитис и могу се јавити код разних инфламаторних стања. Код коња, благо повишење може указивати на колике или ентеритис, док су код свиња хиперамилаземије ретке, осим у случајевима озбиљног панкреатитиса.

Снижене вредности амилазе (хипоамилаземија) су ређе и могу се јавити код инсуфицијенције панкреаса, посебно егзокрине панкреасне инсуфицијенције (ЕПИ), где панкреас не производи довољно ензима за варење. Ово стање је чешће код паса, нарочито код немачких овчара и расе роугх цоллие. Код мачака и других врста, ово стање је мање заступљено. Код преживача, ниске вредности амилазе углавном немају велики клинички значај јер њихова дигестивна активност зависи више од микробиома бурага него од панкреасних ензима.

Уколико се амилаза утврђује само једном, такав налаз нема велики дијагностички значај у процени панкреатитиса код паса без обзира на добијену вредност. Разлог је тај што амилаза има кратак полувек трајања. Потребно је дакле амилазу пратити континуирано, а дневне промене вредности амилазе указују на то да ли постоји прогресија акутног панкреатитиса

Амонијак - Повећане вредности амонијака у крви код различитих животињских врста могу указивати на озбиљне метаболичке поремећаје и стања која утичу на функцију јетре и метаболизам азотних једињења.

Код паса и мачака, повећање амонијака често се повезује са портосистемским шантом (ПСС), урођеним или стеченим стањем у којем крв заобилази јетру, онемогућавајући њено нормално детоксикационо дејство. Ово стање је посебно често код

пасмина као што су јоркширски теријери и малтезери. Због тешкоћа у правилном руковању узорком, мерење пре и постпрандијалних серумских жучних киселина и однос жучне киселине/креатинина у урину заменио је мерење амонијака. Међутим, амонијак може имати бољу осетљивост и специфичност за дијагностиковање портосистемских шанкова. Амонијак је такође супериорнији од жучних киселина у процени хепатичне функције ако је присутан холестаза.

Код преживара, поремећаји метаболизма азота, попут акутне амонијачне токсичности услед конзумације хране богате уреом, могу довести до хиперамонемеије. Ово стање познато као "уремијска интоксикација" јавља се када се уреа у бурагу брзо разлаже на амонијак, а јетра није способна да га довољно брзо детоксикује. Код коња, повећане вредности амонијака могу бити резултат јетрених обољења попут хепатитиса, цирозе или хепатоенцефалопатије, при чему јетра губи способност метаболисања амонијака у уреу. Код свиња, урођени ензимски дефекти у циклусу урее или отровање афлатоксинима могу изазвати пораст нивоа амонијака. Код птица, повећање амонијака се јавља као последица оштећења бубрега или јетре, јер птице излучују мокраћну киселину уместо урее, па је сваки поремећај у метаболизму азота озбиљан. Код рептила, хиперамонемеија је ретка, али се може јавити код продужене дехидрације, лоше исхране или болести јетре. Симптоми хиперамонемеије укључују депресију, летаргију, треморе, поремећаје у понашању, конвулзије и, у тешким случајевима, кому. Дијагностика укључује анализу крви и урина, ултразвук јетре, процену портосистемског протока, као и испитивање функције јетре. Терапија зависи од узрока и може укључивати промену исхране, примену лекова за смањење апсорпције амонијака у цревима и лечење основног обољења.

Аспартат аминотрансфераза (АСТ) је ензим који се налази у многим ткивима, укључујући јетру, мишиће, срце и еритроците, те је његов пораст у серуму индикатор оштећења ових ткива. Иако није специфичан за јетру, често се користи у комбинацији с другим параметрима за процену функције и стања различитих органа код животиња.

Код паса и мачака, повећане вредности АСТ се обично повезују с оштећењем јетре, као што су хепатитиси, хепатична липидоза или неоплазије јетре. Мишићна оштећења, попут трауме или инфламаторних миопатија, такође могу довести до пораста АСТ, посебно у комбинацији с повишеним ЦК (креатин киназом). Хемолитичка стања, попут имуномедијоване хемолитичке анемије, такође узрокују благо повећање АСТ због ослобађања ензима из еритроцита.

Код говеда, АСТ је често повишен код метаболичких поремећаја као што су кетозис и масна јетра, што је посебно значајно код високомлечних крава. Такође, инфекције јетре, попут фасциолозе (инфекција метиљем) и супуративног хепатитиса, могу повећати вредности АСТ. Миопатије изазване минералним дисбалансима (нпр. недостатак селена и витамина Е) такође доприносе порасту овог ензима.

Код коња, АСТ се често користи за процену мишићног оштећења, као што су рабдомиолиза или миопатије повезане с физичким напором (нпр. мишићна болест повезане с преоптерећењем). Оштећење јетре, укључујући хепатотоксичност услед тровања (нпр. пурролизидин алкалоидима из биљака), може такође резултирати порастом АСТ.

Код свиња, повећање АСТ се може повезати с вирусним инфекцијама, попут вирусног енцефаломиокардитиса, или са стресом због транспорта и борбе, што узрокује

мишићна оштећења. Метаболички поремећаји, попут недостатка витамина Е и селена (нутритивна миопатија), често резултирају значајним повећањем АСТ.

Код птица, АСТ је користан маркер за процену оштећења јетре, јер птице имају мање специфичних маркера за функцију јетре у поређењу с другим врстама. Токсичност због авокада, микотоксикоза или болести попут инфекције бактеријама (нпр. Муцобацтериум авиум) често резултирају повећањем АСТ. Мишићне повреде због трауме или метаболичких поремећаја, попут хиповитаминозе Е, такође могу повисити овај ензим.

Код рептила, повећање АСТ се обично јавља код оштећења јетре услед инфекција (бактеријских или гљивичних), токсичних супстанци или неправилне исхране. Мишићна траума због повреда или стреса повезана с транспортом такође може узроковати пораст АСТ.

Аспартат аминотрансфераза (АСТ) је ензим који се ослобађа у крвоток приликом оштећења ћелија у различитим ткивима, укључујући јетру, мишиће, срце и еритроците. Повишене вредности АСТ указују на оштећење или обољење ових ткива, а узроци су различити у зависности од животињске врсте и патолошког процеса.

Оштећење јетре:

Хепатитис (токсични, инфективни или имуномедијовани).

Цироза и фиброза јетре.

Хепатична липидоза (посебно код мачака).

Неоплазије јетре или метастатски тумори у јетри.

Паразитске инфекције (нпр. фасциолоза код говеда).

Тровања (нпр. пурролизидинским алкалоидима, афлатоксинима).

Мишићно оштећење:

Трауматске повреде мишића (посебно код коња и паса).

Инфламаторне миопатије (инфективног или аутоимуног порекла).

Рабдомиолиза код коња (узрокована преоптерећењем или метаболичким поремећајима).

Нутритивна миопатија због недостатка витамина Е и селена (код говеда, свиња и птица).

Срчано оштећење:

Миокардитис или инфаркт миокарда.

Дилатациона кардиомиопатија код паса.

Перикардитис код говеда (нпр. услед трауматског ретикулитиса).

Хемолитичка стања:

Имуномедијована хемолитичка анемија (ИМХА).

Токсична хемолиза (нпр. услед тровања бакром код оваца).

Инфективне болести које изазивају хемолизу (нпр. бабезиоза код паса или теилериоза код говеда).

Инфекције и запаљенски процеси:

Системске бактеријске инфекције (нпр. сепса).

Паразитске инфекције које оштећују јетру, мишиће или крв (нпр. диروفилариоза код паса, стронгилоидоза код коња).

Метаболички поремећаји:

Кетоза и масна јетра код преживара.

Аддисонова болест код паса (хронична адренална инсуфицијенција).

Токсичност амонијака код преживара услед поремећаја метаболизма протеина.

Токсични узроци:

Тровање лековима (нпр. парацетамол код паса и мачака, фенилбутазон код коња).

Биљни токсини (нпр. цикута, кроталариа).

Микотоксикоза (афлатоксини, охратоксини).

Хроничне болести и стрес:

Хронични стрес или исцрпљеност (посебно код коња и птица).

Хроничне инфламаторне болести везивног ткива.

Повишене вредности АСТ се ретко интерпретирају изоловано, јер није специфичан маркер за одређени орган. За прецизнију дијагнозу, АСТ се обично прати у комбинацији с другим ензимима, попут АЛТ (специфичан за јетру), ЦК (мишићни маркер) или ГГТ (посебно код преживара), као и клиничким симптомима и историјом болести.

Анемије код различитих животињских врста представљају стање смањења броја црвених крвних зрнаца (еритроцита), концентрације хемоглобина или хематокрита, што резултира смањеним капацитетом крви за пренос кисеоника. Узроци анемије укључују губитак крви, хемолизу (разградњу еритроцита) и смањену производњу еритроцита. Губитак крви може бити акутни или хронични, изазван траумом, хируршким захватима, улцерацијама или ендопаразитима, као што су *Ancylostoma caninum* код паса. Хемолитичке анемије могу бити имунолошке, попут аутоимуних хемолитичких анемија (ИМХА) код паса, инфективне, изазване хемопаразитима попут *Babesia spp.* и *Anaplasma spp.*, или токсичне, попут тровања бакром код оваца. Смањена производња еритроцита може настати због нутритивних поремећаја, попут недостатка гвожђа, бакра, витамина Б12 или фолне киселине, болести коштане сржи, попут апластичне анемије, мијелофиброзе или леукемије, и хроничних болести, попут бубрежне инсуфицијенције и инфламаторних процеса. Код паса, анемије могу настати услед губитка крви због траума или гастритиса, хемолизе изазване инфекцијама *Babesia canis*, или нутритивних дефицита, попут недостатка гвожђа код младих паса са инфестацијама паразитима. Код мачака, инфекције попут *Mycoplasma haemofelis* узрокују хемолитичку анемију, док ФелВ и ФИВ изазивају депресију коштане сржи. Хронична бубрежна инсуфицијенција код мачака доводи до смањења еритропоетина. Говеда су често погођена паразитима, као што су *Haemonchus contortus* и *Ostertagia ostertagi*, док *Anaplasma marginale* изазива хемолизу. Токсичне анемије код говеда могу бити изазване тровањем бакром или нитратима из хране. Код коња, хемолитичке анемије се јављају због имунолошких реакција, попут неонаталне изоеритролизе код ждребади, док паразити попут *Strongylus vulgaris* узрокују губитак крви. Тровање фенилбутазоном или црвеним јаворским лишћем, као и упални процеси, изазивају анемију код ове врсте. Свиње су подложне паразитима попут *Ascaris suum* и *Trichinella spiralis*, док недостатак гвожђа код прасади може изазвати анемију. *Mycoplasma suis* изазива хемолитичку анемију код свиња. Код оваца и коза, *Haemonchus contortus* изазива губитак крви, док тровање бакром често доводи до масовне хемолизе. Птице су подложне инфекцијама попут авијске маларије (*Plasmodium spp.*), која изазива хемолизу, док недостатак витамина Б12 или фолне киселине може узроковати нутритивне анемије. Тровање оловом инхибира синтезу хемоглобина и изазива анемију. Рептили могу развити анемију због инфекција хемопаразитима, као што су *Hemogregarina spp.*, или

нутритивних дефицита, попут недостатка гвожђа или витамина А. Без обзира на узрок и врсту, анемије захтевају прецизну дијагностику и циљану терапију како би се отклонио основни проблем и омогућио опоравак животиње.

Најчешћи лабораторијски налази код различитих врста анемија зависе од основног узрока, али обухватају промене у броју еритроцита, хематокриту, концентрацији хемоглобина, морфологији еритроцита и присуству специфичних маркера у крви. Код регенеративних анемија, узрокованих губитком крви или хемолизом, налази често укључују ретикулоцитозу (повећан број ретикулоцита као знак активације коштане сржи), полихромазију (присуство младих еритроцита различитих боја), анисоцитозу (варијабилност у величини еритроцита) и поикилоцитозу (абнормални облици еритроцита). Узроци могу укључивати акутна крварења, где лабораторијски налази такође показују смањење укупног протеина, или хемолитичке процесе, који су праћени повећаним билирубином и хемоглобинемијом. Код имунолошких хемолитичких анемија (ИМХА) лабораторијски налази често укључују позитивни Coombs-ов тест, сфероцитозу (округли еритроцити) и аглутинацију еритроцита. Код нерегенеративних анемија, које настају због поремећене хематопоезе, налази укључују низак број ретикулоцита, нормоцитне и нормохромне еритроците (нормалне величине и боје), док апластичне анемије могу показати панцитопенију (смањење свих крвних ћелија) и хипоцелуларну коштану срж. Анемије услед недостатка гвожђа, које су честе код младих животиња и паразитских инфестација, карактеришу микроцитни и хипохромни еритроцити (мањи и са мање хемоглобина), низак серумски гвожђе и смањена сатурација трансферина. Код хроничних болести, анемија је обично блага, нормоцитна и нормохромна, а налази укључују повишене вредности инфламаторних маркера, попут фибриногена и серумске феритине, са ниским серумским гвожђем и засићењем трансферина. Инфективни узроци, као што су хемопаразити (нпр. *Babesia spp.*, *Mycoplasma spp.*), показују присуство паразита у еритроцитима на размазу крви, а често су праћени хемоглобинемијом, хипербилирубинемом и повећаном активношћу ензима јетре. Код тровања, лабораторијски налази зависе од токсина: тровање бакром код оваца показује хемоглобинемију, хемоглобинурију и повећане ензиме јетре, док тровање оловом може показати базофилно тачкање еритроцита. Код бубрежне инсуфицијенције анемија је нормоцитна и нормохромна, са повишеним урее и креатинином. Различите врсте животиња могу имати специфичне налазе, као што су хипопротеинемија код паса са крварењем из гастроинтестиналног тракта, микроцитоза код гвожђем дефицијентних прасади, или хипербилирубинемом код хемолитичке анемије код коња. Све ове лабораторијске промене кључне су за разумевање основног узрока анемије и избор одговарајуће терапије.

Ацидобазни статус - Промене у концентрацијама бикарбоната (HCO_3^-), рН вредности, парцијалног притиска кисеоника (pO_2) и угљен-диоксида (pCO_2), анјонског зјапа (прицепа) и сатурације кисеоника (SaO_2) код животиња повезане су са поремећајима у ацидобазној равнотежи, респираторној функцији и метаболизму. Заједнички узроци поремећаја ових параметара укључују:

1. Метаболичка ацидоза и алкалоза:

- a. Метаболичка ацидоза је последица повећања киселих метаболита (као што су лактати или кетони) или губитка бикарбоната путем гастроинтестиналног тракта (пролив) или бубрега (ренална тубуларна ацидоза). Ово доводи до

смањења HCO_3^- и рН, повећања ањонског зјапа и смањене сатурације кисеоника.

- b. Метаболичка алкалоза настаје услед губитка киселих јона, најчешће повраћањем (губитак H^+ и HCl из желуца), или услед прекомерног уноса бикарбоната, што повећава HCO_3^- и рН.
2. Респираторна ацидоза и алкалоза:
 - a. Респираторна ацидоза јавља се код хиповентилације, када долази до накупљања pCO_2 у крви због смањеног излучивања CO_2 . Ово смањује рН и сатурацију кисеоника, док HCO_3^- може остати нормалан или се компензаторно повећава.
 - b. Респираторна алкалоза је последица хипервентилације, при чему долази до смањења pCO_2 , повећања рН и често смањења HCO_3^- као последица компензације.
 3. Хипоксија и поремећаји сатурације кисеоника: Недовољна оксигенација услед респираторних болести (пнеумонија, плућни едем), анемије, или кардиоваскуларних поремећаја смањује pO_2 и сатурацију кисеоника. Ово може изазвати лактацидозу и секундарне промене у рН, HCO_3^- и ањонском зјапу.
 4. Повећан ањонски зјап: Повећава се код метаболичке ацидозе узроковане лактатима (хипоксија, сепса), кетонима (дијабетес, гладовање), токсинима (салицилати, етилен гликол) или бубрежном инсуфицијенцијом (накупљање урее и фосфата).
 5. Нормалан ањонски зјап метаболичке ацидозе: Може настати код губитка бикарбоната услед пролива или реналне тубуларне ацидозе, где нема додатних киселих метаболита.
 6. Поремећаји у pO_2 и pCO_2 услед вентилације или циркулације: Услови као што су опструкције дисајних путева, смањена плућна перфузија или срчана инсуфицијенција директно утичу на парцијалне притиске гасова у крви.
 7. Мешани ацидо-базни поремећаји - Ањонски зјап (или размак) се често користи за разликовање између губитка бикарбоната (нормални ањонски зјап) и акумулације органских киселина (високи ањонски зјап) код пацијената са метаболичком ацидозом. У мешаним поремећајима киселинско-базног стања, животиња може имати метаболичку ацидозу, али рН може бити у нормалном или алкалном опсегу због супротстављених фактора. У овој ситуацији, висок ањонски размак помаже у идентификовању "окултне" тј. скривене ацидозе.

Базофилија означава повећање броја базофила у периферној крви изнад референтних вредности. Базофили су најмање заступљени гранулоцити у циркулацији, али имају важну улогу у имунолошком одговору, посебно у алергијским реакцијама и инфламаторним процесима. Њихова повишена концентрација може указивати на одређене болести и стања код животиња.

Узроци базофилије код животиња

Алергијске реакције и хиперсензитивност - Базофили учествују у реакцијама које укључују ослобађање хистамина.

Примери:

Атопијски дерматитис код паса.

Хиперсензитивне реакције на уједе инсеката код коња.

Паразитске инфекције

Посебно код инфекција са хелминтхима и ектопаразитима.

Примери: Инфекције нематодама , *Dirofilaria immitis* код паса, *Strongylus vulgaris* код коња.

Хроничне инфламаторне болести

Дуготрајни инфламаторни процеси могу узроковати повећање базофила.

Примери: Хронична ентеропатија код паса, Респираторне болести код птица.

Неоплазије

Тумори повезани са мастоцитима, лимфоцитима или другим хематопоеетским ћелијама могу изазвати базофилију.

Примери: Мастоцитоми код паса и мачака.

Имунолошке болести

Болести везане за прекомерну активацију имунолошког система.

Пример: Аутоимуне болести код паса и мачака.

Инфекције

Базофилија може бити пратећи знак код неких бактеријских и вирусних инфекција.

Примери: Респираторне инфекције код коња и говеда.

Хематолошке болести

Леукемије или друге болести хематопоеетског система могу изазвати повећан број базофила.

Пример: Хронична мијелопролиферативна обољења код паса.

Метаболичке болести

Ретки поремећаји као што су хипертиреоза или хиперлипидемија могу повремено укључивати базофилију.

Базофилија код различитих животињских врста

Пси

Паразитске болести: *Dirofilaria immitis* (срчани црв).

Алергијске реакције: Дерматитис изазван бувама или реакције на храну.

Неоплазије: Мастоцитоми и лимфоми.

Мачке

Паразити: *Aelurostrongylus abstrusus* (плућни црв).

Алергије: Атопија или алергије на храну.

Неоплазије: Лимфоми и мастоцитоми.

Коњи

Паразитске инфекције: *Strongilus vulgaris*, *Habronema spp.*

Алергијске реакције: Хиперсензитивност на уједе инсеката.

Респираторне болести: Хроничне обструктивне плућне болести (COPD).

Говеда

Паразити: Фасциола хепатица (метиљ) или гастроинтестиналне нематоды.

Инфекције: Респираторне инфекције као што су бактеријске пнеумоније.

Алергијске реакције: Ретке, али могуће код реакција на вакцине или лекове.

Свиње

Паразитске инфекције: *Ascaris suum*.

Инфекције: Бактеријске инфекције гастроинтестиналног тракта.

Алергијске реакције: Ретке код свиња, али се могу јавити код реакције на лекове.

Птице

Паразити: Инфекције протозоама, нематодама или ектопаразитима.
Респираторне болести: Аспергилоза и друге гљивичне болести.
Хематолошке болести: Лимфопролиферативни поремећаји код егзотичних птица.

Рептили

Паразити: Нематоды или протозое.
Хронични стрес и инфекције: Дуготрајни проблеми са кожом или респираторним системом.

Базопенија означава смањење броја базофила у периферној крви испод референтних вредности. Базофили су најмање заступљени гранулоцити, а њихова бројност у крви често је природно врло ниска, што отежава детекцију базопеније и њено клиничко тумачење. Базопенија се углавном јавља као резултат физиолошких или патолошких процеса који укључују кортикостероидну активацију или исцрпљивање базофила.

Узроци базопеније код животиња:

Стрес и кортикостероиди (ендогени или егзогени) - Најчешћи узрок базопеније код већине животињских врста. Активација хипоталамо-хипофизно-адреналне осовине доводи до редистрибуције базофила из крви у ткива или до смањења њихове продукције.

Примери:

Пси под стресом током ветеринарског прегледа.

Говеда током транспортног стреса.

Примена егзогенних кортикостероида

Терапија лековима као што су преднизон или дексаметазон доводи до смањења броја базофила у крви.

Примери: Лечење упалних или аутоимунних болести код паса, мачака и коња.

Акутне инфламаторне реакције - У раној фази инфламације базофили се брзо мобилизују на место упале и смањују у циркулацији.

Примери:

Сепса код говеда.

Акутни панкреатитис код паса.

Ендокрини поремећаји

Хиперадренокортицизам (Кушингова болест) често узрокује смањење броја базофила као део стреса леукограма.

Хематолошке болести - Неке болести коштане сржи, као што су апластична анемија или мијелопролиферативни поремећаји, могу довести до смањене продукције базофила.

Пример: Леукемија код паса и мачака.

Инфекције - Тешке бактеријске или вирусне инфекције могу узроковати базопенију као део опште леукопеније.

Примери: Вирус мачје имунодефицијенције (ФИВ) код мачака, парвовируса код паса.

Тешки паразитски инфестације

У неким случајевима, као последица исцрпљивања имунолошког система, базофили могу бити смањени.

Базопенија код различитих животињских врста:

Пси

Кортикостероиди: Егзогени или ендогени кортикостероиди због стреса или Кушингове болести.

Инфекције: Парвовироза, лептоспироза.

Акутне инфламаторне болести: Гастроентеритис, панкреатитис.

Мачке

Стрес: Базопенија је уобичајена током акутног стреса или манипулације.

Инфекције: ФИВ, ФелВ или тешке бактеријске инфекције.

Коњи

Стрес и кортикостероиди: Базопенија се често јавља током транспорта, интензивног тренинга или услед примене глукокортикоида.

Акутне инфекције: Септикемија, пнеумонија.

Говеда

Транспортни стрес: Смањење броја базофила током транспорта или мужње.

Акутне инфекције: Маститис, пнеумонија.

Свиње

Инфекције: Акутне бактеријске инфекције гастроинтестиналног тракта (нпр. салмонелоза).

Стрес: Манипулација или неправилни услови држања.

Птице

Стрес: Базопенија је честа код птица због високог степена осетљивости на стрес.

Инфекције: Тешке респираторне или гастроинтестиналне инфекције.

Рептили

Хронични стрес: Неприкладни услови држања или инфекције често узрокују смањење базофила.

Инфекције: Бактеријске или гљивичне болести.

Бета-хидроксibuтират (БХБ) - Повећање концентрације бета-хидроксibuтирата (БХБ) у крви код животиња најчешће се повезује са метаболичким стањима која укључују повећану производњу кетонских тела услед поремећаја у енергетском балансу. Ово стање, познато као кетоза или хиперкетонемија, последица је интензивне мобилизације масти и преусмеравања метаболизма ка синтези кетонских тела у јетри. Један од најчешћих узрока повећања БХБ је негативни енергетски баланс, који се јавља код млечних крава у раној лактацији, када енергетски захтеви за производњу млека превазилазе унос енергије храном. Сличан процес може се десити и код других сисара током периода високих енергетских захтева, попут трудноће или лактације. Продужени пост или гладовање такође узрокују повећање мобилизације масти и синтезу кетонских тела, укључујући БХБ, као алтернативног извора енергије. Ендокрини поремећаји, попут инсулинске резистенције или смањеног лучења инсулина, смањују способност тела да користи глукозу, што доводи до повећане ослањања на масне киселине и кетонска тела. Ово стање се често виђа код дијабетеса мелитуса код паса и мачака. Болести јетре које ометају нормалну функцију метаболизма масти и угљених хидрата такође могу допринети повишењу БХБ, јер јетра постаје главно место синтезе кетонских тела. Висока мобилизација масти, присутна током интензивног стреса, тешких инфекција, запаљенских процеса или траума, додатно доприноси хиперкетонемији. Код преживара, ферментација у бурагу може играти важну улогу у повишењу БХБ. Висок унос концентрисане хране, који

ремети нормалну функцију бурага, може узроковати субакутну ацидозу и повећати синтезу кетонских тела у јетри. Такође, лоше балансирана исхрана, недовољно влакана или висок садржај лако сварљивих угљених хидрата могу погоршати ситуацију.

Билирубин је жучни пигмент који настаје разградњом хемоглобина из старих еритроцита. Повишене вредности билирубина указују на поремећаје јетре, хемолизу или опструкцију жучних путева. Концентрација билирубина мери се у укупном, директном (коњугованом) и индиректном (некоњугованом) облику, а интерпретација резултата зависи од животињске врсте и клиничког стања.

Пси:

Узроци повишеног билирубина: Хемолитичка анемија, хепатопатије (нпр. хепатитис, цироза, неоплазије), опструкција жучних путева (нпр. панкреатитис, тумори) и септикемија.

Пси имају нижу способност коњугације билирубина у поређењу с другим врстама, па је и благо повећање значајно.

Мачке:

Узроци повишеног билирубина: Липидоза јетре, холангитис, хемолитичке анемије (нпр. узроковане *Mycoplasma hemofelis*), неоплазије и опструкција жучних путева.

Мачке су осетљиве на губитак апетита, што може изазвати секундарну хепатичну липидозу и повећање билирубина.

Коњи:

Специфичност: Коњи природно имају више концентрације некоњугованог билирубина, посебно када су на посту.

Узроци повишеног билирубина: Хемолитичке анемије (нпр. заразна анемија коња), хепатопатије (нпр. хепатитис, токсикоза), жучна стаза и анорексија (чест узрок прелазног повећања билирубина).

Говеда:

Узроци повишеног билирубина: Хемолитичке болести (нпр. бабезиоза, анаплазмоза), хепатичне дисфункције (нпр. фасциолоза, интоксикације) и опструкције жучних путева.

Код говеда је повишење билирубина често повезано с хемолизом.

Свиње:

Узроци повишеног билирубина: Хепатопатије изазване токсинима (нпр. афлатоксини), инфекције (нпр. лептоспироза) и хемолитички процеси (нпр. инфекција *Eperythrozoon suis*).

Птице:

Специфичности: Птице немају биливердин редуктазу, па се код њих ствара биливердин уместо билирубина. Ипак, мерење билирубина није у великој мери клинички значајно код птица.

Рептили:

Узроци повишеног билирубина: Инфекције јетре, хроничне болести јетре или неадекватни услови држања (нпр. хиповитаминоза А, неодговарајућа исхрана).

Повишене вредности билирубина код свих животињских врста указују на потенцијалне проблеме у јетри, хемолизу или опструкцију жучних путева. Дијагностички

значај билирубина варира међу врстама, а његово тумачење захтева узимање у обзир специфичних физиолошких карактеристика сваке врсте. Повишен билирубин треба комбиновати са другим параметрима како би могли проценити хемолитичку болест (крвна слика, салински препарат за аутоаглутинацију, Кумбсов тест), опструкцију жучи (АЛП, ултразвучне или друге имидинг технике), обољења јетре (АЛТ, АЛП, биопсија јетре).

Билирубин директни и индиректни - Билирубин је пигмент који настаје разградњом хемоглобина и других хемопротеина у јетри, слезини и коштаној сржи. У крвотоку се јавља у два облика: индиректни (некоњуговани), који је растворљив у липидима и везан за албумин, и директни (коњуговани), који је растворљив у води и настаје у јетри везивањем за глукуронску киселину. Проценат директног и индиректног билирубина у серуму зависи од функције јетре, степена хемолизе и присуства обструкција у билијарном систему.

Код паса и мачака, повишене вредности билирубина најчешће се повезују са хемолитичким анемијама, болестима јетре и билијарном опструкцијом. Код хемолизе долази до повећања индиректног билирубина због преоптерећења капацитета јетре за коњугацију. Код хепатоцелуларног оштећења (нпр. због хепатитиса или токсичних лезија), оба облика билирубина могу бити повишена. Директни билирубин је често повишен код билијарних обструкција, попут панкреатитиса или тумора билијарног тракта. Међутим, однос коњугованог и некоњугованог билирубина код месоједа често нема велику дијагностичку вредност у разликовању хемолитичког од хепатобилијарног иктеруса.

Код говеда, повећање билирубина обично указује на хемолитичке процесе, попут анаплазмозе или бабесиозе, где доминира индиректни билирубин. Код метаболичких болести јетре, попут кетозе или масне јетре, може доћи до благог пораста билирубина због смањеног капацитета јетре за обраду. Директни билирубин је ређе повишен код говеда, јер билијарна обструкција није честа у овој врсти.

Код коња, билирубин има специфичне обрасце. Повишени индиректни билирубин се често јавља код анорексије, јер гладовање смањује унос глукозе потребне за коњугацију билирубина у јетри. Код хепатопатија, оба облика билирубина могу бити повишена. Директни билирубин се повећава код билијарних обструкција или озбиљних оштећења јетреног паренхима.

Код свиња, повишене вредности билирубина су релативно ретке, али се могу јавити код хемолитичких стања, попут инфекција узрокованих *E.coli* (едемска болест). Такође, јетрене болести изазване микотоксинима могу повећати директни билирубин.

Код оваца и коза, хемолитичке анемије (нпр. код тровања бакром) узрокују пораст индиректног билирубина. Болести јетре, попут фасциозе, могу повећати оба облика билирубина, али директни билирубин често доминира код озбиљних оштећења билијарних путева.

Код птица, билирубин се ретко мери, јер птице користе биливердин уместо билирубина за елиминацију продуката разградње хемоглобина.

Код егзотичних животиња и рептила, повишење билирубина се ретко анализира, али може указивати на хемолитичке процесе или болести јетре, зависно од врсте.

Директни билирубин је обично повишен код болести које укључују билијарну обструкцију или озбиљно оштећење јетре, док је индиректни билирубин повишен код хемолитичких процеса и стања која смањују капацитет јетре за коњугацију.

Интерпретација нивоа билирубина зависи од специфичне животињске врсте, основног узрока и других лабораторијских параметара.

Витамини - Поремећаји у концентрацији витамина код животиња могу настати услед различитих фактора који утичу на унос, апсорпцију, метаболизам, складиштење и излучивање витамина. Недовољан унос витамина у исхрани чест је узрок, а може бити последица лошег квалитета хране, сиромашног земљишта, неправилног складиштења или дуготрајног чувања хране, што смањује садржај витамина. Недостатак зелених биљака у исхрани током зиме или сушне сезоне посебно утиче на унос витамина растворљивих у води, попут Б комплекса и витамина Ц. Проблеми с апсорпцијом витамина јављају се код гастроинтестиналних поремећаја, попут ентеритиса, паразитских инфекција и упалних болести, док дисбаланс цревне микробиоте смањује синтезу и апсорпцију витамина Б комплекса код преживара. Повећане потребе организма за витаминима, као што су периоди раста, гравидитета, лактације или стреса, додатно повећавају ризик од дефицита, а висок ниво производње млека или јаја исцрпљује резерве витамина. Болести јетре и бубрега ограничавају капацитет метаболизма и складиштења витамина, док хормонски поремећаји и дисбаланс липида негативно утичу на витамине растворљиве у мастима. Излагање токсичним супстанцама, попут микотоксина, пестицида и тешких метала, може ометати метаболизам витамина, а неки лекови, попут антибиотика, смањују синтезу витамина Б комплекса у цревима. Генетске предиспозиције, физиолошки статус и интеракције са другим хранљивим материјама, као што је вишак једног витамина који омета апсорпцију другог, такође играју значајну улогу. Еколошки фактори, попут недостатка сунчеве светлости који ограничава синтезу витамина Д код затворених животиња, и стресни услови, попут транспорта или климатских промена, доприносе поремећајима концентрације витамина. Правилна исхрана, суплементација и контрола услова узгоја кључни су за превенцију ових поремећаја и очување здравља животиња.

Недостатак витамина B12 код животиња може настати због недовољног уноса у исхрани, проблема с апсорпцијом, поремећаја метаболизма и складиштења, као и повећаних потреба организма. Витамин B12 се не налази у биљкама, па су биљоједи зависни од синтезе овог витамина у цревима или додатака у исхрани, док лош квалитет исхране, сиромашна паша и неадекватна суплементација повећавају ризик од дефицита. Преживари зависе од микроорганизама у бурагу за синтезу витамина B12, што захтева присуство кобалта у исхрани, па његов недостатак води до дефицита. Проблеми с апсорпцијом могу настати услед гастроинтестиналних поремећаја попут ентеритиса, паразитских инфекција или недостатка унутрашњег фактора, протеина неопходног за апсорпцију витамина B12 у танком цреву. Повећане потребе организма током раста, гравидитета, лактације или високе производње млека додатно исцрпљују резерве овог витамина. Болести јетре, која је главни орган за складиштење витамина B12, могу смањити његове резерве, док паразити у цревима директно ометају апсорпцију или користе овај витамин. Контаминација хране микотоксинима и тешким металима негативно утиче на метаболизам кобалта и синтезу витамина B12 код преживара. Генетске предиспозиције и интеракције са другим хранљивим материјама, попут вишка бабра или цинка, додатно отежавају метаболизам витамина B12. Недостатак витамина B12 може изазвати анемију, губитак телесне масе, нервне поремећаје и смањење продуктивности, па су правилна исхрана, суплементација кобалта и витамина B12, као и контрола паразитских инфекција, кључни за превенцију овог дефицита код животиња.

Дијагностика дефицита витамина код животиња захтева интегрисани приступ који укључује клинички преглед, анализу исхране, лабораторијске тестове и процену услова узгоја. Клинички симптоми често указују на специфичне недостатке витамина. На пример, недостатак витамина А може изазвати проблеме са видом, кератинизацију коже и репродуктивне поремећаје, док дефицит витамина Д води до рахитиса код младих животиња и остеомалације код одраслих. С друге стране, недостатак витамина Е повезује се са мишићном дистрофијом и оксидативним стресом, а дефицит витамина Б комплекса изазива поремећаје у нервном систему, слаб апетит и анемију. Лабораторијска дијагностика укључује мерење концентрације витамина у крви, плазми, серуму или ткивима. На пример, низак ниво ретинола у серуму указује на дефицит витамина А, док се недостатак витамина Д потврђује мерењем метаболита попут 25-хидроксивитамина Д. Анализа антиоксидативног статуса, као што је активност ензима глутатион-пероксидазе, може се користити за процену дефицита витамина Е. За витамине Б комплекса користе се специфични тестови, попут мерења нивоа витамина Б12 у серуму или концентрације фолата. Уз лабораторијске анализе, процена исхране животиње кључна је за идентификацију могућих недостатака витамина. Анализом састава хране, садржаја витамина у оброцима и њиховог складиштења могу се идентификовати потенцијални ризици. Такође, треба проценити услове узгоја, укључујући приступ сунчевој светлости (за синтезу витамина Д) и квалитет паше. Поред клиничких и лабораторијских метода, дијагностика може укључивати тестове терапијског одговора, где се дефицит потврђује побољшањем стања након суплементације одговарајућим витамином.

Биохемијске и хематолошке промене код дефицита витамина:

Дефицит витамина А може изазвати низ хематолошких и биохемијских промена. Од хематолошких промена, примећују се блага анемија (нормоцитна и нормохромна), смањење хематокрита услед лоше исхране, смањена функција лимфоцита, повећана склоност инфекцијама и смањен број ретикулоцита због инхибиције еритропоезе. Биохемијске промене укључују повећање алкалне фосфатазе (АЛП) код младих животиња, повећање укупног билирубина код хроничног оштећења јетре, хипопротеинемију због лоше апсорпције нутријената, смањење серумског ретинола и повећање серумске концентрације креатинина у хроничним стањима.

Дефицит витамина Д такође изазива специфичне промене. Хематолошки, може доћи до благе нормоцитне анемије, смањене функције леукоцита услед хипокалцемије, повећане склоности инфекцијама, секундарне остеомијелофиброзе код хроничне хипокалцемије и леукоцитозе као одговора на инфекције. Биохемијске промене укључују хипокалцемију, хипофосфатемију, повећање рН серума (алкалоза), повећање рН урина и секундарни хиперпаратиреоидизам са повећаним нивоима паратиреоидног хормона (ПТХ).

Код дефицита витамина Е, хематолошке промене обухватају хемолитичку анемију, повећан број ретикулоцита као компензациони одговор, тромбоцитопенију због оштећења ћелијских мембрана, присуство фрагментираних еритроцита (шистоцита) у периферној крви и леукоцитозу због инфламаторног одговора. Биохемијске промене укључују повећање ензима АСТ и ЦК због мишићног оштећења, повећање ЛДХ услед оштећења ткива, повећање слободних масних киселина у серуму, смањење серумског токоферола и повећање продуката оксидације липида.

Дефицит витамина К најчешће изазива поремећаје у коагулацији. Хематолошки, долази до продужења времена протромбина (ПТ) и активiranог парцијалног

тромбопластинског времена (аПТТ), смањења функционалних фактора коагулације (II, VII, IX, X), нормалног броја тромбоцита уз повећану склоност крварењу и појаве ехимотичних и петехијалних крварења. Биохемијске промене укључују хипопротеинемију због губитка крви, смањење активности витамина К зависних фактора коагулације, повећање билирубина код оштећења јетре, смањење фибриногена и повећање Д-димера због активације фибринолизе.

Недостатак витамина Б комплекса изазива различите промене, у зависности од специфичног витамина. Хематолошке промене укључују мегалобластну анемију (недостатак витамина Б12 и фолата), неутропенију код тежег дефицита витамина Б12, повећање MCV код макроцитне анемије и смањен број еритроцита и ретикулоцита. Биохемијски, примећују се хиперметилмалонатемиија код дефицита витамина Б12, повећање амонијака у серуму, повећање хомоцистеина код недостатка фолата, смањење активности аминотрансфераза код недостатка витамина Б6 и хипогликемија у тежим стањима.

Код дефицита витамина Ц, хематолошке промене укључују анемију услед микрокапиларних крварења, тромбоцитопенију због потрошње тромбоцита, леукоцитозу код секундарних инфекција, смањену функцију неутрофила и повећање броја фрагментираних еритроцита. Биохемијске промене обухватају повећање Ц-реактивног протеина (ЦРП) и других маркера инфламације, смањење синтезе колагена и протеогликана, повећање продуката оксидативног стреса, хипоалбуминемију због микроваскуларног оштећења и смањење серумског нивоа аскорбинске киселине.

Гама-глутамил трансфераза (ГГТ) је ензим који се налази у епителним ћелијама билијарног система и других органа, попут бубрега и панкреаса. ГГТ је значајан маркер за процену функције јетре и билијарног система, посебно код болести које укључују холестазу. Његова дијагностичка примена и референтне вредности варирају међу врстама.

Пси и мачке - ГГТ се користи за дијагнозу холестазе и оштећења јетре, често у комбинацији с алкалном фосфатазом (АЛП). Повећање ГГТ код паса и мачака указује на:

Холестазу (интрахепатичну или екстрахепатичну).

Хепатобилијарне неоплазије.

Тровања (нпр. афлатоксини или парацетамол).

Хепатичну липидозу код мачака (у комбинацији с повећањем других ензима).

Коњи - ГГТ је кључни маркер за процену функције јетре код коња. Његово повећање се често повезује са:

Холангиохепатитисом.

Токсинима који погађају јетру (нпр. микотоксини).

Масном јетром код прегојених или метаболички компромитованих коња.

Дуготрајним инфламаторним процесима у јетри.

Говеда и овце - ГГТ је поуздан показатељ оштећења јетре код преживара, посебно у вези с билијарним системом. Његово повећање може бити резултат:

Хроничних инфекција јетре, попут фасциолозе (метиљи).

Микотоксикоза или тровања биљкама.

Масне дегенерације јетре или кетозе.

Неонаталне холестазе код младунаца који конзумирају колострум.

Свиње - Код свиња ГГТ се користи за процену јетрене функције, али се ретко користи самостално. Повећање може указивати на:

Вирусне инфекције (нпр. хепатитис Е).

Тровања (нпр. афлатоксини).

Упале билијарног система услед бактеријских инфекција.

Птице - Код птица ГГТ се користи као маркер за холестазу и оштећење јетре. Повећање се јавља код:

Инфективних болести које захватају јетру (нпр. вирусни хепатитис).

Тровања токсинима или лековима.

Лоше исхране или метаболичких болести.

Рептили - Код рептила ГГТ се користи за процену опште функције јетре, иако његова специфичност није потпуна. Повећања су повезана са:

Системске инфекције или бактеријске болести.

Тровања и неадекватни услови држања.

Лоша исхрана, посебно код врста које захтевају специфичну дијету.

ГГТ је најкориснији маркер за процену болести јетре и билијарног система код коња, преживара, паса и мачака, док је код птица и рептила мање специфичан. Његова интерпретација се често врши у комбинацији с другим параметрима, попут АЛП, АЛТ, АСТ и билирубина, како би се добила јаснија слика о стању јетре и билијарног система.

Гвожђе (Fe), TIBC, UIBC, трансферин, феритин, TS% - Поремећаји у концентрацијама гвожђа (Fe), укупне способности везивања гвожђа (*Total Iron Binding Capacity* - TIBC), несатурисаног капацитета везивања гвожђа (*Unsaturated Iron Binding Capacity* - UIBC), трансферина, феритина и процента сатурације трансферина (TS%) код животиња могу настати услед различитих метаболичких, инфламаторних и нутритивних стања. Ови параметри одражавају статус гвожђа у организму и његову дистрибуцију између складишта, транспортних протеина и активних функција.

Недостатак гвожђа: Недовољан унос гвожђа кроз исхрану, повећани губици услед крварења (акутног или хроничног), или смањена апсорпција гвожђа због гастроинтестиналних болести доводе до смањења Fe, феритина, TS%, а повећања TIBC и UIBC.

Упални процеси и хроничне болести: Инфламација често изазива промене у метаболизму гвожђа услед повећања хепцидина, хормона који инхибира апсорпцију гвожђа и његову мобилизацију из складишта. Ово води до смањења Fe и TS%, док феритин може бити повишен као маркер инфламације, а TIBC и UIBC снижени.

Хемолитичка анемија: Услови који узрокују убрзано разарање црвених крвних зрнаца ослобађају гвожђе у крвоток, што може повећати Fe и TS%, док феритин може остати нормалан или повишен, а TIBC и UIBC се смањују.

Преоптерећење гвожђем (хемохроматоза): Прекомеран унос гвожђа кроз исхрану или интравенске растворе, или поремећаји метаболизма гвожђа, доводе до повећања Fe, феритина и TS%, док су TIBC и UIBC често снижени.

Болести јетре: Обољења јетре утичу на синтезу трансферина и феритина, што може изазвати промене у TIBC, Fe и феритину. Код хроничних болести јетре често долази до накупљања гвожђа и повећања феритина.

Недостатак или поремећај функције трансферина: Генетски или стечени недостатак трансферина води до смањеног TIBC и TS%, док UIBC може бити нормалан или повишен.

Повећане потребе за гвожђем: Физиолошка стања као што су раст, трудноћа или лактација повећавају потребу за гвожђем, што може узроковати смањење Fe, TS% и феритина ако потребе надмашују унос.

Генске болести (одабрани маркери) - Различити гени играју кључну улогу у предиспозицији, настанку и развоју генетских обољења код домаћих и дивљих животиња. Идентификација ових гена омогућава бољу дијагнозу, управљање болестима и селективни узгој ради смањења учесталости обољења.

Код паса, мутација у гену MDR1 (multidrug resistance 1) узрокује преосетљивост на одређене лекове, укључујући авермектине и лоперамид, а присутна је код раса попут колија, аустралијских овчара и дугодлаких випета. Гени SOD1 (супероксид дисмутаза 1) повезани су са дегенеративном мијелопатијом, која погађа старије псе попут немачких овчара и бернских планинских паса. Мутације у гену MYBPC3 узрокују дилатациону кардиомиопатију код добермана, док је ген POMC (проопиомеланокортин) повезан са склоношћу ка гојазности код лабрадора.

Код мачака, мутација гена MYBPC3 узрокује хипертрофичну кардиомиопатију, често дијагностиковану код раса попут мејн куна и рагдола. Ген PKD1 одговоран је за полицистичну болест бубрега, уобичајену код персијских мачака и других дугодлаких пасмина. Такође, гени повезани са пигментацијом и метаболичким поремећајима често су релевантни за специфичне расе.

Код коња, ген SCN4A (sodium channel gene) повезан је са хиперканалемијском периодичном парализом (HYPP), која се јавља код америчких кварт коња. Ген PSSM1 (polysaccharide storage myopathy) одговоран је за поремећај складиштења гликогена, који доводи до мишићних слабости. Генетске мутације одговорне за смртоносни бели синдром ждробета (LWS) налазе се код америчких паинт коња и везане су за ген EDNRB (ендотелин рецептор Б).

Код говеда, мутација гена FMO3 узрокује метаболичке поремећаје сумпорних једињења, док су мутације гена као што су CYP11B1 и SLCO1B3 повезане са урођеним дефектима у метаболизму. Гени одговорни за плодност и репродуктивне способности, попут GDF9 и BMPRII, такође су важни у узгојним програмима.

Код свиња, ген RYR1 (ryanodine рецептор 1) одговоран је за малигну хипертермију, док мутација гена ESR (естроген рецептор) утиче на плодност и величину легла. Генетске варијанте повезане са отпорности на специфичне инфекције, као што су FUT1 за отпорност на *E.coli*, такође су значајне.

Код птица, гени одговорни за пигментацију перја, као што су MC1R (меланоцортин 1 рецептор), играју важну улогу у боји и квалитету перја. Мутације у генима повезаним са метаболизмом и имунолошким одговором могу допринети разумевању генетске основе болести код папагаја и других птица.

Код рептила, гени повезани са метаболизмом калцијума и витамином Д играју кључну улогу у здрављу костију, док генетске варијанте које утичу на пигментацију коже и оклопа омогућавају истраживање наследних поремећаја у овим врстама.

Идентификација и анализа ових гена омогућавају развој молекуларних тестова за рану дијагнозу и селективно узгој, смањујући учесталост генетских болести у популацијама домаћих и дивљих животиња. Технологије попут PCR-а, секвенцирања гена и геномске селекције постале су основни алати у овим истраживањима.

Глукоза - Хипер и хипогликемија код животиња могу настати као резултат различитих фактора који утичу на метаболизам глукозе, укључујући исхрану, ендокрине поремећаје, физиолошке промене, болести и лекове. Хипер- и хипогликемија често су повезане с исхраном. Прекомерни унос лако сварљивих угљених хидрата може изазвати хиперинсулинемију и пролазну хипергликемију. Са друге стране, недовољан унос хране, гладовање или исхрана сиромашна угљеним хидратима могу довести до хипогликемије. Ендокрини поремећаји су чест узрок. Код хиперинсулинемије, изазване инсулиномом или хиперинсулинемијским поремећајем, долази до прекомерне секреције инсулина, што води хипогликемији. Насупрот томе, дијабетес мелитус, као резултат недостатка инсулина или инсулинске резистенције, изазива хипергликемију. Хормон кортизол, који луче надбубрежне жлезде, може повећати концентрацију глукозе у крви, па хиперадренкортицизам (Кушингова болест) често узрокује хипергликемију. Хипоадренкортицизам (Адисонова болест) може изазвати хипогликемију због смањене глуконеогенезе. Физиолошки стрес, укључујући трауму, инфекције, инфламаторне болести и операције, може повећати ниво глукозе у крви путем активације хормона стреса, попут адреналина и кортизола, што води хипергликемији. Такође, неонатне и јувенилне животиње често су склоне хипогликемији због ниских резерви гликогена и повећане потрошње енергије. Болести јетре, које ометају складиштење и ослобађање гликогена, такође могу узроковати оба поремећаја. Хепатопатије, попут масне јетре или цирозе, ометају глуконеогенезу и гликогенолизу, што може изазвати хипогликемију. Одређени лекови, попут кортикостероида, могу изазвати хипергликемију, док предозирање инсулином код дијабетичних животиња често доводи до хипогликемије. Токсични агенси, попут ксилитола у исхрани паса, брзо стимулирају ослобађање инсулина и узрокују хипогликемију. Фактори попут трудноће, лактације и интензивне физичке активности повећавају потрошњу глукозе, што може резултирати хипогликемијом, док болести које повећавају отпорност на инсулин, попут метаболичког синдрома и гојазности, могу изазвати хипергликемију. Разумевање ових заједничких узрока кључно је за правилну дијагностику и третман поремећаја глукозе код животиња.

Дијабетес код животиња има мултифакторско порекло и обухвата генетске, ендокрине, имунолошке и спољашње факторе, као и животни стил и исхрану. Постоје два главна типа дијабетеса: дијабетес типа 1, који је инсулинозависан, и дијабетес типа 2, који је повезан с инсулинском резистенцијом. Код дијабетеса типа 1, главни узрок је аутоимуни процес који доводи до деструкције бета-ћелија панкреаса, што резултира смањеном или потпуном немогућношћу производње инсулина. Овај тип је чешћи код паса и често се јавља у млађој до средњој животној доби. Генетска предиспозиција игра значајну улогу, а одређене расе паса, попут лабрадор ретривера, кокер шпанијела и шнауцера, склоније су овом облику дијабетеса. Дијабетес типа 2 карактерише инсулинска резистенција, при чему ћелије организма не реагују адекватно на инсулин, и прогресивно смањење функције бета-ћелија панкреаса. Овај тип је чешћи код мачака, посебно гојазних и старијих јединки. Гојазност је кључни фактор ризика јер доводи до хроничног инфламаторног стања и смањења осјетљивости ћелија на инсулин. Ендокрини поремећаји, попут хиперадренкортицизма (Кушингова болест) и акромегалије, могу допринети развоју дијабетеса јер повећавају отпорност на инсулин. Хормонски дисбаланси током трудноће или код женки у еструсу такође могу повећати ризик од дијабетеса. Упалне болести панкреаса (панкреатитис) чести су узроци оштећења бета-ћелија и могу довести до дијабетеса. Хронични панкреатитис смањује способност панкреаса да производи

инсулин, док акутни облици могу покренути инфламаторне процесе који додатно отежавају метаболизам глукозе. Одређени лекови, попут кортикостероида и прогестагена, могу изазвати дијабетес изазивајући инсулинску резистенцију или директно оштећујући бета-ћелије. Спољашњи фактори, попут исхране богате угљеним хидратима, ниске физичке активности и стреса, могу допринети развоју инсулинске резистенције и повећати ризик од дијабетеса, посебно код предиспонираних јединки. Правилна исхрана, одржавање здраве телесне тежине и рана дијагностика кључни су за смањење ризика и успешно управљање овом болешћу код животиња.

Различите животињске врсте имају различите способности толерисања хипергликемије, што је повезано с њиховим физиолошким карактеристикама, метаболизмом глукозе и адаптивним механизмима. Пси и мачке се разликују у погледу толеранције на хипергликемију. Пси су генерално мање толерантни на хроничну хипергликемију јер имају већу склоност развоју компликација, попут катаракте, која се често јавља услед повећаног осмозног стреса у сочиву. Код мачака, панкреасне бета-ћелије имају већу способност прилагођавања на повећану концентрацију глукозе у крви, али хронична хипергликемија може изазвати глукотоксичност и оштећење бета-ћелија, што води прогресивном дијабетесу. Код дијабетеса типа 1, производња инсулина је смањена, што доводи до хипергликемије, док код дијабетеса типа 2 тело не реагује адекватно на инсулин. Мачке с дијабетесом најчешће пате од дијабетеса типа 2, који се успешно може контролисати правилном исхраном и губитком телесне тежине, што омогућава мачкама да уђу у ремисију и престану с терапијом инсулином. Мачке с дијабетесом типа 1 ће, међутим, морати да користе инсулин током целог живота, јер је овај облик хронично стање за које не постоји лек. Пси су склонији дијабетесу типа 1 и ретко пате од дијабетеса типа 2, док је код мачака ситуација обрнута. Преживари, попут говеда и оваца, имају релативно стабилан ниво глукозе у крви захваљујући ферментацији у бурагу, при чему се глукоза из хране конвертује у испарљиве масне киселине. Код њих хипергликемија није честа и обично је повезана с ендокриним поремећајима или стресом. Преживачи толеришу краткотрајну хипергликемију боље од моногастричних животиња, али хронични поремећаји могу узроковати метаболичке дисбалансе. Коњи су осетљиви на хипергликемију, посебно у стањима као што су инсулинска резистенција и метаболички синдром. Дуготрајна хипергликемија код коња повезује се с повећаним ризиком од ламинитиса, озбиљне и болне болести копита. Коњи имају ограничену способност метаболизма великих количина глукозе, што их чини подложнијим последицама хроничне хипергликемије. Птице, попут кокошака и папагаја, природно имају виши ниво глукозе у крви у поређењу с сисарима. Њихов метаболизам је прилагођен већим концентрацијама глукозе, али продужена хипергликемија, изазвана ендокриним поремећајима или стресом, може изазвати компликације попут оштећења крвних судова и нервног система. Глодари, као што су пацови и мишеви, често се користе као модел за проучавање дијабетеса јер њихова толеранција на хипергликемију варира зависно од врсте и генетске предиспозиције. Хронична хипергликемија код њих може довести до компликација сличних онима код људи, укључујући нефропатију и ретинопатију.

Лабораторијски знаци компликација дијабетеса код животиња укључују различите промене у параметрима крви и урина, које омогућавају препознавање озбиљнијих стања повезаних са овом болешћу. Хипергликемија је основни знак дијабетеса, а у случају компликација постаје још израженија. Присуство глукозе у урину (глукозурија) указује на немогућност бубрега да апсорбују глукозу због хроничне хипергликемије. Повишени

нивои кетона у крви (кетонемија) и урину (кетонурија) знак су дијабетичне кетоацидозе (ДКА), озбиљне компликације која често прати метаболичку ацидозу, што се потврђује смањеним нивоима бикарбоната и сниженим рН крви. Хипергликемија и присуство кетона такође повећавају осмолалитет серума, што може довести до хиперосмоларног синдрома. Електролитски дисбаланси, попут хипокалемије и хипернатремије, чести су код ДКА и хиперосмоларног синдрома. Повишени нивои урее и креатинина указују на оштећење бубрега, које може бити повезано с хроничном хипергликемијом и дијабетичном нефропатијом, док повишени јетрени ензими, попут АЛТ и АЛП, сугеришу масну инфилтрацију јетре или хепатичну липидозу. Хиперлипидемија, односно повишени нивои триглицерида и холестерола, често прати дијабетес и његове компликације, док присуство протеина у урину (протеинурија) указује на оштећење бубрежног филтра, што је знак дијабетичне нефропатије. Промене у броју леукоцита, попут леукоцитозе, могу указивати на инфекције, које су честе код дијабетичних животиња, посебно уринарних инфекција.

Гликолизирани хемоглобин (HbA1c) представља хемоглобин који је неповратно везан за молекуле глукозе у крви. Његова концентрација одражава просечан ниво глукозе у крви током периода од око два до три месеца код паса и један до два месеца код мачака, што га чини вредним маркером за процену дугорочне гликемијске контроле. Код паса и мачака, гликолизирани хемоглобин је користан за дијагнозу и праћење дијабетес мелитуса. Повишене вредности HbA1c указују на дуготрајно повишене нивое глукозе у крви, што је уобичајено код животиња са недовољно контролисаним дијабетесом. У клиничкој пракси, мерење HbA1c може бити корисно за процену ефикасности терапије инсулином или других метода контроле гликемије. Нормалне вредности HbA1c код здравих паса обично су ниже од 4-5%, док код здравих мачака износе око 3-4%. Код животиња са дијабетесом, ове вредности могу бити знатно повишене, често изнад 8%. Поред дијабетеса, повишен HbA1c може се јавити и код других стања која изазивају хроничну хипергликемију, попут ендокриних поремећаја или стреса. Са друге стране, ниске вредности гликолизираног хемоглобина могу указивати на анемију, бржи обрт еритроцита или поремећаје производње хемоглобина. Због тога је важно резултате HbA1c тумачити у контексту комплетне клиничке слике и других лабораторијских налаза. Иако је гликолизирани хемоглобин мање коришћен у дијагностици дијабетеса код паса и мачака у поређењу са мерењем фруктозамина, његова дужа временска покривеност гликемијских промена чини га вредним дијагностичким и мониторинг параметром код одређених пацијената. Код високих вредности овог параметра мора се размотрити и постојање хиперадреноротицизма или хиперпрогестеронизма који су контра-регулаторни инсулину. Мора се водити рачуна да буде оптималан узорак и преконтролисати се вредност хематокрита јер сувише високе или ниске вредности утичу на лажне промене вредности овог параметра.

Глутамат-дехидрогеназа (ГЛДХ) је ензим локализован у митохондријама, првенствено у јетри. Његова активност у серуму се користи као специфичан маркер оштећења хепатоцита, нарочито код поремећаја повезаних с некрозом или озбиљним оштећењем јетреног паренхима. ГЛДХ је веома користан код различитих животињских врста, јер се разликује у својој дијагностичкој вредности у зависности од врсте и патолошког процеса.

Код паса и мачака, ГЛДХ има ограничену дијагностичку примену у поређењу са другим јетреним ензимима, попут АЛТ и АСТ. Ипак, у случајевима озбиљних оштећења јетре, као што су токсичне лезије, некроза хепатоцита или васкуларне повреде, ниво ГЛДХ може бити повишен. Код мачака, ГЛДХ је користан у праћењу болести јетре у комбинацији с другим ензимима, посебно код болести попут липидозе или хепатитиса.

Код говеда, ГЛДХ је један од најважнијих маркера за дијагностику болести јетре, јер је специфичан за оштећење хепатоцита. Повишени нивои ГЛДХ у говеда се јављају код метаболичких болести, као што су кетоза и масна јетра, као и код токсичних лезија изазваних микотоксинима или тровањем биљкама попут сенеција. Такође, ГЛДХ је користан у детекцији јетрених лезија код паразитских инфекција, попут фасциолозе (метиљи).

Код коња, ГЛДХ се користи као специфичан показатељ хепатоцелуларног оштећења. Повишене вредности могу указивати на хепатопатије повезане с токсичним узроцима, инфекцијама или исхемијским оштећењима јетре. Код коња се ГЛДХ користи заједно са ГГТ и билирубином за процену функције јетре.

Код свиња, ГЛДХ се користи за праћење здравственог стања јетре у случајевима тровања, инфекција или метаболичких поремећаја. Тровање микотоксинима или неким лековима често изазива повишене вредности ГЛДХ. Код свиња, ГЛДХ може бити користан за рано откривање субклиничких оштећења јетре у индустријским условима.

Код оваца и коза, ГЛДХ је значајан показатељ оштећења јетре, нарочито код болести повезаних с храном, попут тровања биљкама које садрже пирролизидинске алкалоиде. Фасциолоза код ових врста такође узрокује повишене нивое ГЛДХ због оштећења јетреног паренхима.

Код птица, ГЛДХ је корисно средство за процену здравља јетре, посебно код тровања (нпр. афлатоксинима) или метаболичких поремећаја изазваних лошом исхраном. Његова примена код птица је ограничена, али може пружити додатне информације у комбинацији с другим јетреним маркерима.

Код егзотичних врста и рептила, ГЛДХ се ретко користи, али може бити од помоћи у оцени јетреног оштећења код врста где је јетра главни орган за детоксикацију, нарочито код тровања или инфекција.

ГЛДХ је специфичан маркер за хепатоцелуларно оштећење код различитих животињских врста, са посебним значајем код говеда, коња и преживара. Његова дијагностичка вредност лежи у откривању озбиљних оштећења јетре, посебно код токсичних, паразитских или метаболичких болести. У комбинацији с другим јетреним параметрима, ГЛДХ омогућава свеобухватну процену функционалног статуса јетре.

Дисеминована интраваскуларна коагулација (ДИК) - Дисеминована интраваскуларна коагулација (ДИК) је комплексни синдром карактерисан системском активацијом коагулације која доводи до формирања микротромба, потрошње фактора коагулације и тромбоцита, што резултира секундарним крварењем. ДИК није примарна болест, већ последица основног патолошког процеса, а узроци и манифестације варирају међу животињским врстама. Код паса, ДИК најчешће настаје као последица септикемије, тешких бактеријских инфекција (посебно пиометре и пнеумоније), неоплазија (хемангиосаркома, аденокарцинома), панкреатитиса, великих траума или топлотног удара. Код мачака, узроци укључују тешку сепсу, инфективне болести попут ФеЛВ-а и ФИВ-а, панкреатитис, трауме и неоплазије попут аденокарцинома. Код коња, ДИК се често јавља

као последица ендотоксемије, колитиса, ламинитиса, тешке хемолитичке анемије, плацентитиса и сепсе код ждребади. Код говеда, ДИК се повезује с маститисом, метритисом, септикемијом изазваном бактеријама као што су *Salmonella* и *E.coli*, вирусним инфекцијама попут БВД-а и оштећењем јетре. Код свиња, синдром дисеминоване интраваскуларне коагулације јавља се у току септикемије, токсичних инфекција, ендотоксемије и неких вирусних болести попут ПРРС-а. Код птица и рептила, узроци укључују сепсу, трауме и тешке инфламаторне процесе, али је ДИК ређи у овим врстама.

Дијагноза ДИК-а захтева комбинацију клиничких налаза и лабораторијских тестова. Кључни лабораторијски налази укључују:

Продужење АПТТ и ПТ: Означава потрошњу фактора коагулације.

Смањење концентрације фибриногена: Код хроничног ДИК-а може бити нормалан или повећан због инфламаторног одговора.

Повећање Д-димера и продукти деградације фибрина (ФДП): Указују на фибринолитичку активност и разградњу угрушка.

Тромбоцитопенија: Последица повећане потрошње тромбоцита.

Фрагментациони на крвном размазу: Микроангиопатска хемолитичка анемија је често присутна.

Смањена активност антиромбина III: Означава повећану потрошњу природних инхибитора коагулације.

Диференцијална дијагноза укључује друге коагулопатије, сепсу без ДИК-а, примарне тромбоцитопатије и наслеђене дефиците фактора коагулације. Тачна интерпретација лабораторијских резултата захтева узимање у обзир целокупног клиничког стања и основног патолошког процеса. Правовремена дијагноза је кључна за управљање и лечење овог потенцијално фаталног стања.

Електрофореза протеина код различитих животињских врста представља значајну технику која омогућава раздвајање и анализу различитих протеина у серуму, плазми или другим телесним течностима, а користи се за идентификацију абнормалности у протеинима, процену функције органа и дијагностику различитих болести, укључујући инфламаторне, неопластичне и имунолошке поремећаје. Ова метода се заснива на раздвајању протеина према њиховој величини, набоју и облику под утицајем електричног поља, при чему се узорци обично раздвајају на фракције, међу којима су албумин, који је главни протеин серума, чији пад указује на губитак протеина, лошу синтезу, као што је случај код јетрених болести, или хроничне упале, и глобулини, који се деле на алфа-, бета- и гама-глобулине, од којих свака фракција има специфичну улогу у имунитету, транспорту и коагулацији. Код паса, нормални профил протеина у серуму показује изражену албуминску фракцију и јасно дефинисане алфа-, бета- и гама-глобулинске фракције, док патолошки налази укључују хипоалбуминемију, која је присутна код јетрених обољења, ентеропатија с губитком протеина или нефропатија, повећање гама-глобулина, што указује на хроничне инфекције, имунолошке поремећаје попут лупуса или лимфома, као и повећање бета-глобулинске фракције, што може бити последица инфламација или неоплазми. Код мачака је нормални профил сличан оном код паса, али се карактерише релативно нижим нивоом албумина и израженијом гама-глобулинском фракцијом, док патолошки налази укључују хипоалбуминемију, која је повезана с ФелВ, ФИВ или системским инфламаторним болестима, поликлоналну хипергамаглобулинемију,

која указује на хроничне инфекције попут инфективног перитонитиса мачака (ФИП), и моноклоналну хипергамаглобулинемију, која је често повезана са лимфомом или мијеломом. Код коња, нормални протеински профил сличан је оном код паса, са израженом бета-глобулинском фракцијом, док патолошки налази укључују хипоалбуминемију, која је честа код ентероколитиса, протеин-губитних ентеропатија и јетрених болести, повећање гама-глобулина, што указује на хроничне инфекције попут ждремачке имунодефицијенције или инфекција актинобацилусом, као и повећање бета-глобулина, што се јавља код акутних инфламаторних процеса. Код говеда, нормални профил показује већу концентрацију гама-глобулина у поређењу са другим врстама, док патолошки налази укључују хипоалбуминемију, која је повезана с паразитским инфекцијама или инфламаторним болестима, и повећање гама-глобулина, које се јавља код хроничних инфекција попут маститиса или вирусних болести, као што је бовина вирусни дијареја (БВД). Код птица, нормални профил карактеришу нижи нивои албумина и израженије глобулинске фракције у поређењу са сисарима, док патолошки налази укључују повећање гама-глобулина, што је присутно код инфекција попут аспергилозе или вирусних болести, и повећање алфа-глобулина, које се јавља код акутних инфламаторних реакција. Електрофореза протеина је драгоцен дијагностичка техника у ветеринарској медицини, јер анализа серума или плазме омогућава откривање специфичних образаца абнормалности повезаних с разним болестима, укључујући инфламације, неоплазије, имунолошке и инфекцијске поремећаје, при чему се тумачење електрофоретских налаза врши узимајући у обзир клиничке симптоме и друге лабораторијске анализе како би се поставила тачна дијагноза и одредила одговарајућа терапија.

Еозинофилија означава повећан број еозинофила у периферној крви изнад референтних вредности. Еозинофили су гранулоцити укључени у имунолошки одговор на паразитске инфекције, алергијске реакције и одређене инфламаторне процесе. Узроци еозинофилије варирају међу животињским врстама, а њена присутност пружа важне информације о основним патолошким процесима.

Узроци еозинофилије код животиња:

Паразитске инфекције су главни узрок еозинофилије код већине животињских врста. Нематодe (округли црви), цестодe (пантљичаре) и трематодe (метилји) често узрокују овај одговор. Примери: *Toxocara canis* код паса, *Ascaris suum* код свиња, *Strongylus vulgaris* код коња. Инфекције ектопаразитима - Заразе бувама, шугарцима (*Sarcoptes scabiei*), крпељима или вашима. Код паса, шуга изазива изражену еозинофилију.

Инфекције гљивицама и протозоама - Хистоплазмоза и коксидиоидомикоза код паса и мачака. Протозое попут трипанозоме могу изазвати еозинофилију код говеда.

Алергијске реакције - Хиперсензитивне реакције, као што су атопијски дерматитис, уртикарија или анафилакса, могу изазвати еозинофилију. Пси и мачке: Алергије на храну, буве или полен. Коњи: Хиперсензитивност на уједе инсеката.

Еозинофилни грануломи и болести везивног ткива - Мачке: Еозинофилни грануломи на кожи и оралној слузокожи. Пси: Еозинофилни миозитис (упала мишића). Коњи: Мултисистемски еозинофилни инфламаторни процеси.

Неоплазије - Тумори са еозинофилним инфилтратима, као што су мастоцитоми, лимфоми или карциноми. Мастоцитоми код паса често доводе до еозинофилије због ослобађања хистамина.

Аутоимуне болести - Системски инфламаторни процеси или имунолошки поремећаји. Код паса, болести везане за васкулитис могу изазвати еозинофилни одговор.

Терапијски узроци и реакције на лекове - Реакције на одређене лекове (пеницилин, сулфонамиди) код осјетљивих животиња. Адренална инсуфицијенција (Адисонова болест) Посебно код паса, недостатак кортикостероида може изазвати еозинофилију.

Еозинофилија код различитих животињских врста:

Пси

Паразитске болести: *Ancylostoma caninum*, *Dirofilaria immitis*.

Алергије: Дерматитис изазван бувама, алергије на храну.

Неоплазије: Мастоцитоме, лимфоми.

Адисонова болест: Хронична адренална инсуфицијенција често укључује еозинофилију.

Мачке

Паразити: *Toxocara cati*, *Aelurostrongylus abstrusus*.

Еозинофилни гранулом комплекс: Укључује лезије на кожи, уснама и оралној шупљини.

Алергијске болести: Астма, алергије на храну или инхалаторне алергене.

Коњи

Паразити: *Strongylus vulgaris*, *Habronema spp.* (летњи чиреви).

Хиперсензитивне реакције: Уједи инсеката ("sweet itch").

Еозинофилна ентероколопатија: Дигестивни поремећај са инфламацијом и инфилтрацијом еозинофила.

Говеда

Паразити: *Ostertagia ostertagi*, *Fasciola hepatica*.

Инфекције протозоама: трипанозома, бабезија.

Микотоксикозе: Одређени токсини изазивају инфламацију праћену еозинофилијом.

Свиње

Паразити: *Ascaris suum*, *Trichinella spiralis*.

Респираторни паразити: *Metastrongylus spp.*

Алергијске реакције: Мање учестале, али могу се јавити услед реакције на контаминирану храну.

Птице

Паразити: Цестоде, нематодe и протозое.

Алергијске реакције: Ретке код птица, али могуће у изложености специфичним иритантима.

Респираторне инфекције: Аспергилоза и друге гљивичне болести.

Рептили

Паразити: Инфекције нематодама или протозоама.

Хроничне инфекције: Бактеријске и гљивичне болести.

Стрес и неправилна исхрана: Могу узроковати инфламацију са повећањем броја еозинофила.

Еозинопенија означава смањење броја еозинофила у периферној крви испод референтних вредности. Иако се мање често користи као клинички показатељ у поређењу са еозинофилијом, еозинопенија је значајна у одређеним физиолошким и патолошким стањима код животиња.

Узроци еозинопеније код животиња:

Стрес и ендогени кортикостероиди - Најчешћи узрок еозинопеније код већине животињских врста. Активација хипоталамо-хипофизно-адrenalне осовине током стреса доводи до смањења еозинофила.

Примери:

Акутни стрес код паса током ветеринарских прегледа.

Код говеда током транспорта или мужње.

Примена екзогенних кортикостероида - Глукокортикоиди смањују циркулацију еозинофила повећањем њихове редистрибуције у ткива.

Примери: Терапија дексаметазоном код паса и мачака или преднизолом код коња.

Акутне инфламаторне реакције

Код акутне фазе инфламације, еозинофили се регрутују у ткива или брзо разграђују.

Примери:

Пнеумонија код говеда.

Акутни гастритис код паса и мачака.

Инфекције - Тешке бактеријске или вирусне инфекције често прате леукопенију, укључујући смањење еозинофила.

Примери:

Сепса код коња.

Парвовирус код паса.

Адренална хиперфункција (Кушингова болест) - Повећана секреција кортизола у хроничним случајевима доводи до еозинопеније.

Пример: Кушингов синдром код паса.

Неоплазије - Тумори који изазивају системске промене у хематопоези или имунолошком одговору могу довести до еозинопеније.

Примери: Хемангиосарком код паса, карциноми код мачака.

Имуносупресивна терапија - Хемотерапијски лекови или лекови који инхибирају функцију коштане сржи могу смањити број еозинофила.

Метаболичке болести - Хиперадренокортицизам и други поремећаји ендокриног система утичу на број еозинофила.

Еозинопенија код различитих животињских врста:

Пси

Стресни леукограм: Уобичајено код акутног стреса, страха или током терапије кортикостероидима.

Кушингова болест: Хронична ендокрина дисфункција често доводи до значајне еозинопеније.

Мачке

Акутни стрес: Смањење броја еозинофила може се јавити током ветеринарског прегледа или манипулације.

Инфекције: Вирусна стања као што су ФИВ и ФелВ могу узроковати општу леукопенију, укључујући еозинопенију.

Коњи

Стрес: Транспорт, интензивни тренинг или акутни бол често изазивају еозинопенију.

Инфекције: Сепса или тешке бактеријске инфекције.

Говеда

Транспортни стрес: Стање познато као транспортна грозница обично укључује смањење броја еозинофила.

Акутне инфекције: Пнеумоније, маститиси и ентеритиси.

Свиње

Ендокрини поремећаји: Смањен број еозинофила у стресним ситуацијама повезан је са повећаном продукцијом кортизола.

Инфекције: Акутне бактеријске инфекције попут салмонелозе.

Птице

Стресне ситуације: Транспорт или манипулација изазивају смањење еозинофила у циркулацији.

Инфекције: Тешке бактеријске болести или аспергилоза.

Рептили

Стрес и неправилна исхрана: Лоши услови држања и инфекције.

Инфекције: Гљивичне или бактеријске болести.

Еритроцити имају кључну улогу у транспорту кисеоника до ткива и уклањању угљен-диоксида. Разлике у броју еритроцита, њиховој величини, облику и садржају хемоглобина између животињских врста одражавају адаптације на специфичне физиолошке потребе и окружење. Код паса број еритроцита износи између $5,5$ и $8,5 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин се креће од 12 до 18 g/dL , док је хематокрит у распону од 37% до 55% . Пси имају релативно велики број еритроцита и висок садржај хемоглобина, што је прилагођено њиховим потребама за високом аеробном активношћу. Код мачака број еритроцита варира између $5,0$ и $10,0 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин износи $8\text{--}15 \text{ g/dL}$, а хематокрит је у опсегу од 30% до 45% . Специфичност код мачака је да имају мање еритроците у поређењу с псима, док је њихов животни век еритроцита краћи (око 70 дана у поређењу са 100 дана код паса). Код говеда број еритроцита варира од $5,0$ до $10,0 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин се креће између 8 и 15 g/dL , док је хематокрит између 24% и 46% . Еритроцити говеда су мањи и дискоцитног облика, а регенеративни одговор на анемију је спорији. Коњи имају број еритроцита од $6,5$ до $12,0 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин између 11 и 19 g/dL , док је хематокрит у распону од 32% до 53% . Специфична особина коња је способност "сплетичне контракције", односно ослобађања резервних еритроцита из слезине у циркулацију током стреса или физичког напора. Код свиња број еритроцита се креће између $5,0$ и $8,0 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин износи $10\text{--}16 \text{ g/dL}$, а хематокрит је између 32% и 50% . Свиње имају релативно високу вредност хемоглобина у поређењу с другим домаћим животињама исте величине. Овце имају број еритроцита између $9,0$ и $15,0 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин се креће између 9 и 15 g/dL , док је хематокрит у опсегу од 27% до 45% . Еритроцити оваца су мањи и имају тенденцију да лако формирају рулоу, односно низање попут новчића. Код коза број еритроцита је највиши међу домаћим животињама и креће се између 12 и $18 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин износи $8\text{--}12 \text{ g/dL}$, док је хематокрит између 22% и 38% . Козе имају најмање еритроците међу домаћим животињама, са просечном величином (MCV) од 16 до 25 fL . Птице имају број еритроцита између 3 и $4 \times 10^6/\mu\text{L}$, хемоглобин у

опсегу од 10 до 17 g/dL, док је хематокрит између 35% и 55%. Специфичност птица је што имају овалне и једроносне еритроците, прилагођене повећаном метаболизму и високим енергетским потребама. У поређењу између врста, број еритроцита је највиши код коза, а најмањи код птица. Величина еритроцита (MCV) је већа код паса и коња, док су најмањи еритроцити присутни код коза. Хемоглобин је највиши код паса и коња, док је нижи код оваца и птица.

Патолошке форме еритроцита код животиња могу указивати на различите болести или физиолошке поремећаје, а њихова идентификација је важан дијагностички алат у ветеринарској медицини. Сфероцити су мали, округли еритроцити без централног просветљења и најчешће се срећу код паса са имуномедираном хемолитичком анемијом (ИМХА), док су код других врста ретки. Ехиноцити (бур ћелије) имају равномерне кратке избочине, често су артефакт неправилног сушења, али могу указивати на дисбаланс електролита, уремију или змијски ујед код паса. Акантоцити, еритроцити са неправилним дугим избочинама, повезују се са јетреним обољењима као што је липидоза јетре код мачака или са хемангиосаркомом код паса. Шизоцити, неправилни фрагменти еритроцита, карактеристични су за микроангиопатску хемолитичку анемију и дисеминовану интраваскуларну коагулопатију (ДИК). Tear-drop ћелије (дакриоцити), у облику сузе, обично су артефакт, али могу указивати на мијелофиброзу или инфилтрацију коштане сржи. Таргет ћелије (мета ћелије), са тамним кругом у средишту, ређе се јављају код животиња, али могу бити присутне код хроничних обољења јетре или анемије услед недостатка гвожђа. Серповидни еритроцити, у облику полумесеца, нормални су код неких врста попут лама и алпака због адаптације на високе надморске висине, али су патолошки код других животиња. Стаматоцити, са провидним делом у облику уста, повезани су са херeditарном стоматоцитозом код одређених раса паса, као што је алијаски маламут, или са јетреним поремећајима. Базофилне тачке, које представљају накупине рибозома у еритроцитима, указују на тровање оловом или регенеративну анемију, а често се срећу код говеда са хроничним инфекцијама. Хеинзова тела, округле инклузије у еритроцитима, јављају се као последица оксидативног стреса, попут тровања парацетамолом код мачака, или код токсичних стања и поремећаја јетре. Полихромазни еритроцити, који су већи и плавичасте боје, указују на регенеративну анемију и најчешће се виђају код паса и мачака. Нуклеарни еритроцити (nRBC), који задржавају језгро, нормални су код птица и рептила, док код сисара могу указивати на регенерацију или поремећаје коштане сржи. Анализа ових патолошких форми еритроцита игра значајну улогу у процени здравственог стања животиња.

Аглутинација еритроцита може се јавити у различитим ситуацијама и код различитих животиња, било да се посматра на размазима крви или у ин витро условима. Аглутинација еритроцита представља процес у којем се еритроцити скупљају у групе или обликују агрегације, често као резултат присуства антитела на њиховој површини. На размазима крви, аглутинација се може уочити као групе или кластери еритроцита који су спојени, што указује на аутоимуне болести, као што је имунска хемолитичка анемија. Микроскопски, изглед аглутинације може се разликовати од других хематолошких аномалија, као што су рулеа, што су групе еритроцита који су се лепили један за други као новчићи. У овим случајевима, тестирање крви и разликовање аглутинације од других појава (као што су рулеа) може бити од кључног значаја за дијагнозу. У *in vitro* условима, аглутинација може бити резултат изложености различитим антигенима или другим супстанцама, као што су оксидативни агенси или инфекције. Ова аглутинација се често

користи као индикатор у лабораторијским тестовима, као што су директни антиглобулински тестови (који детектују присуство имуноглобулина на еритроцитима) или у тестовима за одређивање аутоимуних реакција. Код животиња, аглутинација еритроцита може бити повезана са различитим болестима и стањима. Код неких животиња, као што су коњи и мачке, аглутинација еритроцита може бити физиолошка, али у другим случајевима може бити индикатор патолошких процеса, укључујући инфекције, токсичне ефекте или аутоимуне болести.

Жучне киселине – Најчешћи узроци повећане концентрације жучних киселина код животиња:

Хепатоцелуларна инсуфицијенција – Када јетра није способна да правилно метаболизује и излучује жучне киселине, оне се акумулирају у крви. Ово је чест налаз код болести као што су хронични хепатитис или цироза.

Портосистемски шант – Код конгениталних или стечених шантова долази до заобилажења нормалног протока крви кроз јетру, што смањује њену способност да уклони жучне киселине из циркулације.

Холестаза – Прекид или смањење протока жучи из јетре у црева може довести до накупљања жучних киселина у крви. Узроци холестазе укључују упалу жучних путева, камење или туморе.

Интрахепатичне лезије – Тумори, апсцеси или цисте унутар јетре могу ометати нормалан проток крви и функцију јетре, што доводи до повећања жучних киселина.

Акутна или хронична болест јетре – Различити облици хепатитиса или оштећења јетре услед инфекција, токсичних агенса или метаболичких поремећаја могу узроковати повећање концентрације жучних киселина.

Конгенитални дефекти јетре – Урођени поремећаји, попут дефицита ензима који учествују у метаболизму жучних киселина, могу довести до њиховог повећања у крви.

Сепса – Тешке инфекције могу узроковати дисфункцију јетре и холестазу, што резултира повећањем жучних киселина.

Хипотиреоидизам – Код паса, хипотиреоидизам може изазвати секундарне поремећаје у функцији јетре, укључујући смањену способност излучивања жучних киселина.

Постпрандијално стање – Након оброка, привремено повећање жучних киселина у крви може се јавити због њиховог излучивања у жуч како би се помогло у варењу масти. Ово повећање се обично врати у нормалу након неколико сати.

Токсичност или лекови – Одређени токсини (попут афлатоксина) и лекови (попут кортикостероида) могу изазвати оштећење јетре или пореметити метаболизам жучних киселина, што доводи до њиховог накупљања.

Имунодефицијенције код животиња - Имунодефицијенције код животиња могу бити примарне (урођене) или секундарне (стечене), а специфични маркери помажу у њиховој идентификацији и праћењу. Код паса, смањене вредности имуноглобулина (IgG, IgA, IgM) указују на примарне имунодефицијенције, као што су селективни недостатак IgA и комбинована имунодефицијенција. Код секундарних имунодефицијенција, као што су инфекције парвовирусом или неоплазије, може се уочити пад укупног броја лимфоцита и дисфункција фагоцита. Мачке са инфекцијама вирусом мачје имунодефицијенције (ФИВ) или мачје леукемије (ФеЛВ) често имају смањене CD4⁺ лимфоците, нарушен

однос CD4/CD8 лимфоцита и повећане вредности алфа-1-киселог гликопротеина (AGP) као маркер инфламације. Код коња, примарне имунодефицијенције, попут тешке комбиноване имунодефицијенције (SCID) код арапских коња, карактеришу недостатак функционалних Б и Т лимфоцита, као и низак ниво имуноглобулина. Секундарне имунодефицијенције услед стреса или инфекција, као што су оне изазване вирусом инфективног артеритиса коња (EAV), могу се идентификовати смањењем броја лимфоцита. Код говеда, инфекција вирусом говеђе вирусне дијареје (BVD) узрокује лимфоцитопенију и дисфункцију неутрофила, док урођене дефицијенције, попут леукоцитне адхезијске дефицијенције говеда (BLAD), карактеришу дисфункционални неутрофили. Код свиња, инфекција вирусом синдрома репродуктивних и респираторних поремећаја свиња (PRRSV) може узроковати смањење броја лимфоцита, нарушену производњу цитокина и повећане вредности акутних фазних протеина. Птице са имунодефицијенцијама, попут оних изазваних инфекцијом вирусом Марекове болести или Гумборо болести, показују смањење броја Б лимфоцита и атрофију бурзе Фабрици. Код рептила, подаци су ограничени, али се имунодефицијенције услед стреса или неправилних услова држања могу повезати са смањењем броја леукоцита и лимфоцита. Специфични маркери имунодефицијенције, попут смањених имуноглобулина, лимфоцитопеније, дисфункције фагоцита и повећаних протеина акутне фазе, кључни су за идентификацију и праћење имунолошких поремећаја код различитих животињских врста.

Имуноглобулини (Ig) имају кључну улогу у имунолошкој одбрани организма. Међу њима, IgG, IgM и IgA су најважнији изотипи и њихова концентрација варира међу различитим животињским врстама, у зависности од физиолошког и имунолошког стања.

IgG је најзаступљенији имуноглобулин у серуму код свих врста сисара и одговоран је за дуготрајну имунолошку заштиту, неутрализацију токсина и опсонизацију патогена. Код паса и мачака, ниво IgG у серуму обично износи 10–20 g/L, код коња 10–25 g/L, а код говеда 20–40 g/L, што је значајно више због њихове овисности о пасивном преносу антитела колострумом. Код птица, IgY, функционални еквивалент IgG-a, присутан је у концентрацијама од 5–15 g/L. Код рептила, ниво IgG је генерално нижи и може се кретати од 1 до 5 g/L, зависно од врсте.

IgM је први имуноглобулин који се производи током примарног имунолошког одговора и игра важну улогу у иницијалној фази борбе против инфекција. Код паса и мачака, концентрација IgM обично се креће од 0,5–2 g/L, док је код коња и говеда нешто виша, између 1 и 3 g/L. Код птица, концентрација IgM је релативно ниска, обично испод 1 g/L. Код рептила, нивои IgM варирају, али су често слични онима код птица.

IgA је кључни имуноглобулин присутан на мукозним површинама, где пружа заштиту од инвазије патогена у респираторном, дигестивном и урогениталном тракту. Код паса и мачака, ниво IgA у серуму обично се креће од 0,1–0,5 g/L, док је код коња и говеда сличан или нешто виши. Код птица и рептила, IgA је такође присутан, али на знатно нижем нивоу у серуму, јер се његова главна активност одвија на мукозним површинама.

Поремећаји имуноглобулина укључују хипогамаглобулинемију, која може бити последица имунодефицијенција (урођених или стечених), и хипергамаглобулинемију, често повезану с хроничним инфекцијама, инфламацијом или неопластичним процесима попут мултиплог мијелома. Код говеда, посебно је важно проценити ИгГ код новорођенчади како би се утврдила успешност пасивне трансференције антитела

колострумом. Код птица и рептила, снижени нивои имуноглобулина често су последица стресних фактора, инфекција или субоптималних услова околине.

Имунофенотипизација леукемија код животиња представља кључну технику у дијагностици и класификацији малигних поремећаја хематопоезског система, омогућавајући прецизно разликовање врста леукемија и идентификацију њиховог порекла помоћу антитела специфичних за површинске, цитоплазматске или нуклеарне маркере. Ова метода се примењује протоком цитометрије или имунохистохемијским техникама, са циљем идентификације линијског порекла малигних ћелија (мијелоидна, лимфоидна или мегакариоцитна линија), класификације леукемија према FAB или WHO системима, диференцијације акутних и хроничних леукемија, те праћења одговора на терапију и минималне резидуалне болести. Код паса, акутна лимфобластна леукемија (АЛЛ) се карактерише маркерима попут CD34, CD3 (Т-лимфоцити), CD79а и CD20 (Б-лимфоцити), док се хронична лимфоцитна леукемија (CLL) разликује маркерима CD3, CD4, CD8 за Т-лимфоците и CD21 за Б-лимфоците, при чему је најчешћи имунофенотип В-CLL. Акутна мијелоидна леукемија (АМЛ) показује маркере као што су CD34, CD14, CD68 и мијелопероксидаза (МПО), док се код хроничне мијелоидне леукемије (ЦМЛ) бележе маркери CD34, CD11b и CD13. Код мацака, леукемије често повезане са вирусом мајке леукемије (ФелВ) укључују лимфоидне леукемије са маркерима CD79а и CD20 за Б-лимфоците и CD3 за Т-лимфоците, док су мијелоидне леукемије ређе и карактерисане маркерима CD34, МПО, CD14 и CD68. Код говеда, лимфосарком повезан с бовиним леукемијским вирусом (БЛВ) најчешће укључује Б-лимфоцитне леукемије са маркерима CD5, CD19 и CD79а, док су акутне леукемије ретке и карактерисане маркерима CD34, МПО и CD14. Коњи такође могу развити акутну лимфобластну леукемију са маркерима CD3 и CD79а, док су мијелоидне леукемије, иако ретке, обележене маркерима МПО, CD14 и CD34. Код птица, лимфопролиферативне болести се најчешће односе на Б-лимфоцитне леукемије са маркерима CD3 и CD79а, док мијелопролиферативни поремећаји укључују маркере CD34 и МПО и могу бити повезани са ретровирусима. Имунофенотипизација, користећи панеле који укључују CD34 за матичне ћелије, CD3 и CD79а за лимфоидне линије и МПО и CD14 за мијелоидне линије, пружа тачне информације о типу леукемије, олакшава дијагностику и терапију, те представља незаобилазан део савремене ветеринарске хематологије.

Проточна цитометрија и имунофенотипизација су кључне методе у савременој дијагностици хематолошких, имунолошких и неопластичних обољења код животиња, које омогућавају квантитативну и квалитативну анализу појединачних ћелија у течним узорцима, као што су периферна крв, коштана срж или аспирати лимфних чворова, пружајући детаљне информације о њиховим карактеристикама. Проточна цитометрија представља технологију која користи ласерску светлост за анализу физичких и хемијских особина ћелија, при чему се узорци обележавају флуоресцентним антителима која се специфично везују за површинске или интрацелуларне маркере ћелија, а детектори мере распршење светлости, што указује на величину и грануларност ћелија, као и интензитет флуоресценције, који указује на присуство специфичних маркера. С друге стране, имунофенотипизација је процес идентификације и карактеризације ћелија на основу експресије специфичних површинских, цитоплазматских или нуклеарних протеина, познатих као маркери, који омогућавају одређивање линијског порекла ћелија, попут Т-лимфоцита, Б-лимфоцита и мијелоидних ћелија, и разликовање нормалних од

абнормалних ћелија. Ове методе имају широку примену код животиња, укључујући дијагностику леукемија и лимфома, где проточна цитометрија омогућава детекцију бластних ћелија у периферној крви или коштаној сржи, а имунофенотипизација користи специфичне маркере, као што су CD3 за Т-лимфоците, CD79а за Б-лимфоците, МПО за мијелоидне ћелије и CD34 за матичне ћелије, чиме се олакшава класификација леукемија на лимфоидне и мијелоидне. Такође, проточна цитометрија је од суштинског значаја за праћење минималне резидуалне болести након терапије малигних болести, јер омогућава детекцију малих популација преосталих малигних ћелија, док квалитативна и квантитативна анализа имунолошких ћелија помаже у дијагностици имунодефицијенција, аутоимуних болести и алергијских стања. Ове технике су корисне и за диференцијацију реактивне лимфоцитозе, изазване инфекцијама, од лимфопролиферативних болести, као и за идентификацију еозинофилија и моноцитоза специфичних за одређене патологије. У области истраживања и трансплантације ћелија, имунофенотипизација игра важну улогу у праћењу компатибилности ћелија и истраживањима везаним за регенеративну медицину. Уобичајени маркери који се користе укључују CD3, CD4 и CD8 за Т-лимфоците, CD79а и CD20 за Б-лимфоците, CD34 за матичне ћелије, МПО за мијелоидне ћелије, CD14 и CD68 за моноците и макрофаге, те CD21 за Б-лимфоците и дендритске ћелије. Предности ових метода огледају се у њиховој брзини, прецизности и поузданости, што омогућава рано откривање болести, прецизну класификацију и праћење тока терапије, те их чини незамењивим у савременој ветеринарској медицини, посебно у дијагностици хематолошких и имунолошких поремећаја.

Инклузије у крвним ћелијама - укључујући еритроците, леукоците и тромбоците, могу указивати на различите патолошке процесе, инфекције, токсичне ефекте или генетске поремећаје, али такође могу бити резултат артефаката насталих током узорковања и обраде крви.

У еритроцитима, инклузије могу настати због присуства инфективних агенаса као што су *Babesia spp.*, које изазивају бабезиозу код паса, говеда и коња, или *Mycoplasma spp.*, која се везује за еритроците код мачака, изазивајући хемолитичку анемију. *Anaplasma spp.* изазива анаплазмозу код говеда, док токсични агенси или оксидативни стрес могу довести до формирања *Heinzovих тела*, што је често код мачака након излагања токсинима. Остале инклузије, попут *Howell-Jolly*-јевих телашаца, представљају остатке нуклеарног материјала и најчешће се јављају код регенеративних анемија или код животиња са уклоњеном слезином.

У леукоцитима, инклузије могу указивати на токсичне промене, као што су Долеова тела која су плавкасте структуре видљиве у цитоплазми неутрофила, а често се јављају током инфламација или системских инфекција. Инфективни агенси као што су *Ehrlichia spp.* могу формирати моруле у цитоплазми леукоцита, док *Histoplasma capsulatum*, гљивични патоген, може инфицирати леукоците код паса и мачака. Генетски поремећаји попут *Chediak-Higashi синдрома* такође могу довести до присуства огромних гранула у леукоцитима код погођених животиња.

Инклузије у тромбоцитима су ређе, али могу бити значајне у одређеним ситуацијама. На пример, *Anaplasma platys* инфицира тромбоците и изазива цикличну тромбоцитопенију код паса. Артефакти, као што су преципитати боје или контаминација током припреме размаза, такође могу изгледати као инклузије, али немају клинички значај.

За правилно разликовање клинички значајних инклузија од артефаката, неопходна је прецизна припрема и бојење узорака, микроскопска процена од стране искусног хематолога или ветеринара и примена додатних дијагностичких тестова, као што су PCR анализа, серологија или култура. Укратко, инклузије у крвним ћелијама представљају важан дијагностички алат, али се њихова интерпретација мора вршити у контексту клиничке слике, врсте животиње и додатних дијагностичких налаза како би се донеле тачне одлуке о дијагнози и терапији.

Инсулин је кључни хормон који регулише метаболизам глукозе, липида и протеина. Производи се у бета ћелијама панкреаса и омогућава улазак глукозе у ћелије, чиме смањује концентрацију глукозе у крви. Такође инхибира липолизу, глуконеогенезу и кетогенезу, док подстиче синтезу гликогена, масних киселина и протеина. Нормално функционисање инсулина је од суштинског значаја за одржавање метаболичке равнотеже.

Хиперинсулинемија је стање повишеног нивоа инсулина у крви, најчешће повезано с инсулинском резистенцијом. Панкреас лучи вишак инсулина како би надокнадио смањени одговор ткива на инсулин, што се често виђа код гојазности, метаболичког синдрома и других метаболичких поремећаја. Код коња је хиперинсулинемија повезана са синдромом инсулинске дисфункције и развојем ламинитиса, док код мачака може указивати на преддијабетично стање. Са друге стране, хипоинсулинемија представља смањено лучење инсулина, што доводи до хипергликемије. Најчешће је последица аутоимуног уништавања бета ћелија панкреаса, што је карактеристично за дијабетес типа 1 код паса. Код говеда и других преживара, хипоинсулинемија се може јавити током негативног енергетског баланса, као што је случај у периоду после тељења. Дијагностички значај ових стања лежи у њиховој повезаности с основним метаболичким поремећајима. Хиперинсулинемија може бити рани знак инсулинске резистенције и развоја дијабетеса, док хипоинсулинемија указује на исцрпљивање бета ћелија панкреаса. Мерење нивоа инсулина у крви, у комбинацији с нивоима глукозе и липидима, кључно је за идентификацију и праћење ових поремећаја, чиме се омогућава правовремено спровођење одговарајућих терапијских мера.

Инсулинска резистенција настаје када ћелије престану адекватно да реагују на инсулин, због чега панкреас повећава лучење инсулина (хиперинсулинемија) како би одржао нормогликемију. Дуготрајна инсулинска резистенција може довести до исцрпљивања бета ћелија панкреаса и развоја дијабетеса типа 2 код људи и сличних стања код животиња. Ниво инсулина у крви користи се за процену функције панкреаса и идентификацију хиперинсулинемије, а у комбинацији с гликемијом омогућава израчунавање индекса инсулинске резистенције, као што су HOMA-IR (*Homeostasis model assesment*), QUICKI (*Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*) и RQUICKI (*Revised QUICKI*). HOMA-IR процењује инсулинску резистенцију на основу глукозе и инсулина наташте, где више вредности указују на већу резистенцију, док QUICKI, који је обрнут пропорционалан инсулинској резистенцији, даје ниже вредности код резистентних стања. RQUICKI је модификована верзија QUICKI-ја, која укључује НЕФА (неестерификоване масне киселине) поред глукозе и инсулина и користи се код животиња. Инсулинска резистенција код животиња је повезана с различитим метаболичким поремећајима, укључујући гојазност, метаболички синдром, ламинитис код коња, липидозу јетре код мачака и кетозу код говеда. Праћење инсулинске сензитивности код домаћих животиња од

кључног је значаја за превенцију и контролу ових стања, као и за унапређење њиховог здравља и продуктивности.

Калијум (К) - Хипер- и хипокалијемија код животиња јављају се као последица поремећаја у равнотежи калијума, који је кључан интрацелуларни јон са виталном улогом у одржавању мембранског потенцијала, нервне проводљивости, мишићне контрактилности и ацидобазне равнотеже. Хиперкалијемија се често јавља услед смањеног излучивања калијума, што се дешава код хроничних бубрежних болести, акутног оштећења бубрега или употребе лекова који смањују елиминацију калијума, као што су калијум-штедећи диуретици. Такође, повећано отпуштање калијума из ћелија може настати услед хемолизе, трауме, рабдомиолизе или синдрома туморске лизе, при чему се велике количине калијума ослобађају у крвоток. Метаболичка ацидоза, која повећава киселост крви, подстиче прелазак калијума из интрацелуларног у екстрацелуларни простор, што повећава његов ниво у плазми. Ретко, хиперкалијемија може настати због прекомерног уноса калијума путем исхране или интравенских раствора. Насупрот томе, хипокалијемија често настаје због смањеног уноса калијума, што може бити последица исхране сиромашне овим минералом или гладовања. Повећан губитак калијума дешава се код хроничних пролива, повраћања, полиурије или употребе диуретика који појачавају његово излучивање. Редистрибуција калијума из екстрацелуларног у интрацелуларни простор често је узрокована метаболичком алкалозом, при којој долази до смањења киселости крви. Нормални нивои K^+ у присуству метаболичке ацидемије указују на ниске залихе K^+ . Нормални нивои K^+ код алкалотичне животиње указују на то да је укупан ниво K^+ у организму висок. Хормонски поремећаји, попут хипералдостеронизма или повећаног лучења инсулина, могу додатно допринети прекомерном преместању или излучивању калијума. Ови поремећаји у концентрацији калијума могу озбиљно утицати на функцију мишића, срца и нервног система код животиња, што захтева брзо препознавање и адекватну терапију како би се успоставила равнотежа овог есенцијалног минерала.

Калцијум (Са) - Калцијум је кључни минерал у многим физиолошким процесима, укључујући контракцију мишића, коагулацију крви, нервну проводљивост и минерализацију костију. Равнотежа калцијума у крви зависи од апсорпције у цревима, мобилизације из костију и излучивања путем бубрега, што регулишу хормони као што су паратироидни хормон (ПТХ), калцитонин и активни облик витамина Д (калцитриол). Узроци хиперкалцемије укључују хиперпаратиреоидизам, који може бити примарни, изазван туморима паратиреоидних жлезда, или секундарни, повезан са хроничним бубрежним обољењем, при чему долази до повећаног ослобађања калцијума из костију и његове реапсорпције у бубрезима. Витамин Д токсичност, узрокована прекомерним уносом витамина Д или његових аналога, повећава апсорпцију калцијума из црева и мобилизацију из костију. Неоплазије, попут лимфома и аденокарцинома, могу лучити супстанце сличне ПТХ (ПТХрП), што изазива хиперкалцемију, док болести костију, укључујући остеолитичке процесе попут метастаза или упала, ослобађају велике количине калцијума у крвоток. С друге стране, хипокалцемија се јавља услед хипопаратиреоидизма, при чему смањено лучење ПТХ, често због оштећења паратиреоидних жлезда, доводи до пада калцијума у крви. Недостатак витамина Д смањује апсорпцију калцијума у цревима и мобилизацију из костију, док повећан губитак калцијума настаје услед стања попут хроничне бубрежне инсуфицијенције, млечне грознице код крава или еклампсије код паса,

која изазивају повећано излучивање калцијума путем бубрега или млека. Хранљиви дисбаланси, укључујући исхрану са ниским садржајем калцијума или високим садржајем фосфора, могу ометати његову апсорпцију. Код месоједа хипокалцемија може бити у вези са хроничним панкреатитисом. Промене нивоа јонизованог калцијума често су повезане са ацидобазним статусом, где ацидоза повећава ниво јонизованог калцијума, док га алкалоза смањује. Хипоалбуминемија, смањење нивоа албумина у крви, доводи до смањења укупног калцијума, али јонизовани калцијум може остати нормалан. Електролитни дисбаланси, попут хипомагнезије и хиперкалемије, такође могу директно или индиректно утицати на равнотежу јонизованог калцијума. Јонизовани калцијум се може директно мерити или се може израчунати путем формуле. Примена формуле код месоједа није погодна због слабије тачности.

Крвне групе животиња и посттрансфузијске реакције - Крвне групе су генетски одређени системи који означавају специфичне антигене присутне на површини црвених крвних зрнаца (еритроцита) и играју кључну улогу у одређивању компатибилности крви при трансфузији. Код различитих животињских врста постоје различити системи крвних група, који се разликују по броју и врсти антигена. Неадекватна компатибилност између донаторске и пријемничке крви може довести до посттрансфузијских реакција, које могу бити озбиљне и потенцијално опасне по живот.

Крвне групе код паса: Крвне групе код паса углавном се заснивају на систему ДЕА (Дог Еруthroцуте Антиген). Најпознатији су систем ДЕА 1.1, ДЕА 1.2 и ДЕА 7. Крвна група ДЕА 1.1 је најважнија, јер псима са овом групом могу изазвати озбиљне реакције ако примају крв неспојиву с овом групом. Већина паса је негативна на ДЕА 1.1, а само мањи број паса (око 40%) носи овај антиген. Крвна група ДЕА 1.1 негативна може примити крв од пса са било којом групом без изазивања хемолитичке реакције, док паса са ДЕА 1.1 позитивним крвним групама не би требало трансфузирати крв од паса са ДЕА 1.1 негативним антигеном без претходне компатибилности тестирања.

Крвне групе код мачака: За разлику од паса, мачке имају три главне крвне групе: А, Б и АБ. Мачке са групом А су најчешће, док су мачке са групом Б мање учестале, а група АБ је врло ретка. Проблем настаје ако мачка са групом Б прими крв од мачке са групом А, јер ће развити антитела која нападају стране еритроците, што доводи до озбиљних посттрансфузијских реакција. Код мачака, реакције трансфузије могу бити фаталне ако није урађена одговарајућа компатибилност теста.

Крвне групе код коња: Коњи имају сложенији систем крвних група који укључује осам различитих антигена, означених А, Ц, Д, К, П, Q, У и Т. Као и код других животиња, неправилна компатибилност између донора и пријемника може изазвати посттрансфузијске реакције, укључујући хемолитичке реакције које могу бити врло опасне.

Посттрансфузијске реакције: Посттрансфузијске реакције могу се класификовати као хемолитичке или нехемолитичке: 1. Хемолитичке реакције настају када крвни судови донора нису компатибилни са судовима пријемника, што доводи до уништавања црвених крвних зрнаца и ослобађања хемоглобина. То може изазвати озбиљне последице, укључујући затајење бубрега, шок, или смрт. Хемолитичке реакције су чешће код паса, мачака и коња који нису тестирани на компатибилност пре трансфузије. 2. Нехемолитичке реакције су мање озбиљне реакције које обухватају имунолошке одговоре који не доводе до уништавања еритроцита, али могу изазвати температуру, отицање или алергијске

реакције. Такве реакције су обично мање опасне, али и даље могу узроковати нелагодности за животињу. 3. Алергијске реакције могу настати због реакције имунолошког система животиње на стране протеине у крви донора. Ове реакције могу изазвати симптоме попут свраба, црвенила или отежаног дисања.

Посттрансфузијске реакције код паса и мачака представљају озбиљан медицински проблем који може настати након трансфузије крви или крвних компоненти. Реакције могу бити различите и варирати од благи симптома до озбиљних, животно угрожавајућих стања. Дијагностика посттрансфузијских реакција је кључна за правовремено препознавање и лечење тих стања, а укључује клиничку процену, лабораторијске тестове и пажљиво праћење животиње након трансфузије. Клинички симптоми посттрансфузијских реакција: Клинички симптоми могу се појавити одмах након трансфузије или неколико сати касније. Уобичајени симптоми посттрансфузијских реакција укључују: грозницу, летаргију, вртоглавицу или несвесност, отежано дисање (диспнеја), повећање броја откуцаја срца (тахикардија), замућење урина - које може указивати на хемолизу (уништавање црвених крвних зрнаца), свраб - црвенило или отицање (ако се јави алергијска реакција), повећање телесне температуре, у ретким, али озбиљним случајевима и на крају шок или смрт.

Лабораторијски тестови за дијагностику посттрансфузијских реакција подразумевају следеће тестове:

Тестови компатибилности крви (crossmatch test): Пре трансфузије, најважнији тест за превенцију посттрансфузијских реакција је тест компатибилности. Овај тест се користи за проверу да ли крв донора и пријемника одговарају и не изазивају хемолитичке реакције. Уколико се не уради пре трансфузије, постоји висок ризик од реакција због неспојивости крви.

Број црвених крвних зрнаца (еритроцити): Хемолитичке реакције могу узроковати уништавање црвених крвних зрнаца (хемолиза), што може довести до смањења броја еритроцита у циркулацији. У том случају, лабораторијски тестови ће показати смањење броја црвених крвних зрнаца и повећање концентрације билирубина (због распада хемоглобина).

Урин – анализа урина: Ако дође до хемолитичке реакције, може доћи до ослобађања хемоглобина у крвоток, што се потом избацује у урин, што узрокује тамну боју урина (хемоглобинурија). Анализа урина може помоћи у идентификацији овог симптома.

Тестови за одређивање броја тромбоцита: Хемолитичке реакције могу изазвати оштећење крвних судова, што може утицати на број тромбоцита и довести до крварења. Број тромбоцита се може смањити, што се детектује анализом крви.

Квантификација НТ-проБНП или других маркера: У неким случајевима, посебно када је посттрансфузијска реакција повезана са срцем, тестирање НТ-проБНП може показати повећање, што указује на стрес на срце или оштећење срчане функције.

Киселинско-базни статус: Трансфузије крви могу изазвати промене у киселинско-базном статусу. На пример, ацидоза може настати због ослобађања киселине из црвених крвних зрнаца током хемолизе. Тестирање pH крви може открити ове промене.

Биохемијска анализа: Повишени нивои лактата, билирубина и ензима попут ЛДХ (лактат дехидрогеназа) могу указивати на оштећење ткива, укључујући еритроците, или на токсичност која настаје због посттрансфузијске реакције.

Алергијске реакције: Ако сумњате на алергијску реакцију након трансфузије, важно је мерити нивое хистамина, IgE и других маркера алергије у крви. Ове реакције обично не изазивају хемолизу, али могу изазвати озбиљан пад крвног притиска, отежано дисање и друге алергијске симптоме.

Третман посттрансфузијских реакција зависи од типа и тежине реакције. У случају алергијских реакција, обично је довољна примена антихистаминика или кортикостероида, док хемолитичке реакције могу захтевати интравенске течности, лечење шока и других подржавајућих терапија. У најтежим случајевима, може бити потребно прекинути трансфузију и започети терапију за решавање реакције.

За успешну дијагностику и превенцију посттрансфузијских реакција, ветеринари морају пажљиво пратити стање животиње пре, током и након трансфузије.

Превенција посттрансфузијских реакција укључује претходно тестирање крви донора и пријемника, познавање крвних група животиња, као и коришћење крви која је већ проверена на компатибилност. У неким случајевима, ветеринар може препоручити трансфузију крвних компоненти (као што су плазма или црвене крвне ћелије) уместо пуне крви, како би смањио ризик од реакција.

Комплемент је део урођеног имунолошког система који се састоји од више од 30 протеина и пептида присутних у серуму и на ћелијским мембранама. Његове главне функције укључују лизу патогена, опсонизацију, хемотаксију и уклањање имунских комплекса. Активација комплемента може се одвијати кроз класични, алтернативни и лектински пут, а различите компоненте комплемента имају специфичне функције у имунолошким реакцијама.

Код паса, комплемент има важну улогу у одговору на бактеријске и вирусне инфекције. Најчешће мерени параметри су Ц3 и Ц4 компоненте, које су кључне за класични и алтернативни пут. Повећање нивоа Ц3 може указивати на акутне инфламаторне процесе, док снижење може бити последица хроничних инфекција или аутоимунних болести попут системског еритемског лупуса.

Код мачака, компоненте комплемента се често проучавају у контексту вирусних инфекција попут ФИВ-а и ФеЛВ-а, где може доћи до исцрпљивања комплемента. Снижени нивои Ц3 и Ц4 повезани су с имунодефицијенцијама, док њихова повећана активација може указивати на имунопатолошке процесе.

Код коња, комплемент има кључну улогу у одбрани од бактеријских инфекција, попут оних изазваних *Streptococcus equi*. Нивои Ц3 и Ц4 често се користе као индикатори инфламаторних стања и аутоимунних поремећаја. Снижени нивои могу бити присутни код имунолошких поремећаја или исцрпљивања током тешких инфекција.

Код говеда, комплемент је значајан у борби против бактеријских инфекција, попут маститиса изазваног *Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus*. Снижени нивои Ц3 и Ц4 могу указивати на субклиничке инфекције или имунолошку супресију, док њихова повећана активност често прати акутне инфламаторне процесе.

Код птица, комплемент је мање истражен, али познато је да игра важну улогу у мукозној имуности и заштити против инфекција. Активност комплемента се може

смањити услед стреса или неправилне исхране, што птице чини подложнијим инфекцијама.

Код рептила, комплемент функционише на сличан начин као код птица, али с нешто нижим нивоима активности, што одражава њихов спорији метаболизам и различите адаптације имунолошког система. Активација комплемента код рептила често је повезана с њиховим условима околине и здравственим стањем.

Дијагностички значај комплемента лежи у његовој улози као маркера инфламације и имунолошких поремећаја. Снижење нивоа комплемента може указивати на његове повећане потрошње током инфекција, аутоимуних болести или дефицита у синтези, док његово повећање може пратити акутне фазе инфламације. Анализа нивоа комплемента, посебно Ц3 и Ц4, пружа корисне информације о имунолошком статусу различитих животињских врста и може помоћи у дијагностици и праћењу тока болести. Смањена концентрација комплемента код животиња најчешће је повезана с хроничним инфламаторним болестима, где хроничне инфекције или аутоимуне болести, попут системског еритемског лупуса код паса или мачака, изазивају прекомерну потрошњу комплемента, што доводи до смањења нивоа компоненти као што су Ц3 и Ц4 у серуму. Такође, генетски поремећаји који утичу на синтезу комплемента, попут наследних дефицијенција одређених компоненти, могу узроковати смањену концентрацију, при чему је дефицијенција Ц3 повезана с понављајућим инфекцијама. Поред тога, болести јетре, будући да се већина протеина комплемента синтетише у јетри, попут хепатитиса или цирозе, могу значајно смањити њихове нивое. С друге стране, повећана концентрација комплемента примећује се у акутним инфламаторним реакцијама, где активација комплемента током бактеријских или вирусних инфекција доводи до повишења Ц3 и Ц4, који имају улогу у имунолошком одговору. Код аутоимуних поремећаја, прекомерна активација комплемента може изазвати инфламаторна оштећења ткива, док одређене неоплазије, попут лимфома код паса, могу изазвати дисрегулацију комплемента, укључујући прекомерну активацију или потрошњу.

Креатин киназа (ЦК) је ензим специфичан за ткиво, првенствено присутан у мишићима, срцу и мозгу, и важан је маркер оштећења мишића. Повишене вредности ЦК указују на оштећење мишићног ткива и користе се у дијагностици различитих миопатија и повезаних болести код животиња.

Пси:

Мишићне повреде: Трауматске повреде, миозитис или дегенеративне миопатије.

Неуромишићни поремећаји: Полирадикулонеуритис или миастенија гравис.

Инфекције: *Ehrlichia canis* или токсоплазмоза које захватају мишиће.

Напади: Повишење ЦК је чест налаз након епилептичних напада.

Хипотиреоза: Може изазвати благу миопатију са повећањем ЦК.

Мачке:

Трауме: Повреде мишића због несрећа или напада.

Инфекције: Токсоплазмоза или ФИВ са секундарним захватањем мишића.

Идиопатска полимиопатија: Честа код мачака са хипокалемијом.

Напади: Као и код паса, ЦК се повећава након генерализованих напада.

Коњи:

Рабдомиолиза: Чест узрок повећања ЦК, укључујући "tuing up" синдром, синдром понедељком (Monday morning disease) и хипертермију услед напора.

Трауме: Повреде мишића услед удараца или несрећа.

Миозитис: Инфективни миозитис или аутоимуни процеси.

Анестезија: Пролонгирана анестезија може узроковати миопатију и повећање ЦК.

Говеда:

Нутритивна миопатија: Услед недостатка селена и витамина Е (болест белих мишића).

Трауме: Повреде мишића током транспорта или телета током тешког порођаја.

Токсини: Интоксикације (нпр. *Cassia spp.*) које изазивају оштећење мишића.

Инфекције: Цлостридиум спп. инфекције (нпр. малигни едем).

Свиње:

Стрес синдром свиња: Малигна хипертермија повезана са повећањем ЦК.

Мишићне повреде: Повреде током транспорта или због агресивног понашања међу свињама.

Недостатак селена и витамина Е: Узрокује дегенерацију мишића.

Птице:

Трауме: Повреде крила или мишића груди код птица које неадекватно слећу.

Миозитис: Инфекције мишића или инфламаторни процеси.

Стрес: Продужено излагање стресу може изазвати благо повећање ЦК.

Рептили:

Оштећења мишића: Трауматске повреде или метаболички поремећаји.

Инфекције: Бактеријске и гљивичне болести које захватају мускулатуру.

Неправилни услови држања: Недостатак адекватне температуре или исхране може изазвати мишићне проблеме.

Повишене вредности ЦК код свих животињских врста примарно указују на оштећење мишића, а често се користе у комбинацији са другим маркерима као што су АСТ и ЛДХ ради процене тежине и локализације проблема. Његова специфичност за скелетне мишиће чини га кључним дијагностичким алатом код миопатија и неуромишићних поремећаја.

Креатинин - Повећане вредности креатинина код животиња могу бити узроковане различитим стањима и обољењима. Хронична бубрежна инсуфицијенција, која представља дуготрајно оштећење бубрежне функције, смањује способност елиминације креатинина кроз гломеруларну филтрацију и често се јавља код старијих паса, мачака и коња. Акутно оштећење бубрега (АКИ), изазвано токсичностима попут антифриза, хипоперфузијом, инфекцијама попут лептоспирозе или опструкцијама, такође доводи до задржавања креатинина у крви. Дехидрација, услед недовољног уноса течности или губитка воде, смањује бубрежни проток крви и филтрацију, што резултира повећањем нивоа креатинина, посебно код коња и преживара. Опструкција уринарних путева, изазвана каменом, туморима или кристалима, онемогућава елиминацију креатинина и узрокује његово накупљање у организму. Гастроинтестинална хеморагија може довести до смањења бубрежног протока крви због хипотензије, што повећава ниво креатинина.

Рабдомиолиза, стање које се јавља услед разградње мишићног ткива, ослобађа миоглобин и креатинин у крвоток, што је често код коња са азотуријом. Кардиоваскуларни шок узрокује хипотензију и смањен проток крви кроз бубреге, смањујући филтрацију креатинина и повећавајући његов ниво. Висок унос протеина, посебно код паса храњених месом у великим количинама, може изазвати повећање метаболизма азотних супстанци и ослобађање креатинина. Хепаторенални синдром, који настаје код болести јетре, системски утиче на бубреге и смањује елиминацију креатинина. Коначно, лекови и токсини, као што су нестероидни антиинфламаторни лекови, аминокликозиди или отровне биљке, могу оштетити бубреге и узроковати задржавање креатинина. Код већине бубрежних поремећаја креатинин расте заједно са уреом. Проверити специфичну тежину урина. Код смањене концентрације креатинина испитати да ли постоји патолошки губитак мишићне масе или мршављење.

Криоглобулини су протеини у крви који се таложе или преципитују при ниским температурама, обично испод 37°C, а растопљени су на вишим температурама. Њихово присуство у крви може указивати на различите патолошке процесе, укључујући аутоимуне болести, инфекције, туморе или друге имунолошке поремећаје. Криоглобулини се обично деле у три класе према њиховој имунолошкој активности: тип I (моноклонални), тип II (мешовити) и тип III (поликлонални). Тестирање криоглобулина се спроводи тако што се узорак крви ставља у температурну комору на 4°C током 72 сата, и ако се присутни криоглобулини таложе, узорак се затим загрева на 37°C како би се проверило да ли су се растворили. Криоглобулини су дијагностички значајни јер њихово присуство може указивати на разне болести, укључујући бактеријске, вирусне или паразитске инфекције, као што су лептоспироза, ФИП (*Feline Infectious Peritonitis*), ехрлицхиоза и бабесиоза, а посебно могу бити значајни у раним фазама болести. Поред тога, криоглобулини су повезани са аутоимуним болестима као што је лупус еритематозус, где изазивају васкулитис и оштећење крвних судова. Могу бити присутни и код тумора попут плазмацитома или лимфома, јер тумори могу производити велике количине ових протеина који даље могу изазвати запаљење и оштећење крвних судова у васкулитисним синдромима, што се манифестује кожним лезијама и унутрашњим крварењима. Поред тога, присуство криоглобулина може бити повезано са хематолошким поремећајима, као што су хемолитичке анемије и тромбоцитопенија, јер могу ометати нормалну циркулацију и довести до оштећења црвених крвних зрнаца. У ветеринарској медицини, дијагностика криоглобулина може значајно помоћи у препознавању озбиљних болести и омогућити правовремено лечење, смањујући ризик од озбиљних компликација.

Лактат - Лактат је продукт анаеробног метаболизма глукозе, који се ствара када је снабдевање ткива кисеоником смањено или када је потрошња кисеоника повећана. Његова концентрација у крви представља важан индикатор ткивне перфузије и оксигенације, због чега се користи за процену стања која укључују хипоксију, шок и метаболичке поремећаје. Повишени нивои лактата, познати као хиперлактатемија, најчешће се јављају код стања као што су хиповолемијски или септички шок, тешка инфекција, респираторна инсуфицијенција, кардиогени шок, тешке повреде, хеморагија или болести које ометају оксидативни метаболизам, попут интоксикација или неких метаболичких болести. Такође, локална исхемија ткива, као код волвулуса црева или торзије органа, може значајно повећати лактат. Осим акутних стања, хронични метаболички поремећаји, као што су

лактацијска кетоацидоза код преживача, такође могу довести до повишеног лактата. У овим случајевима, његова мерења помажу у процени тежине стања и ефикасности терапијских интервенција. Лактат се мери у артеријској или венској крви, при чему повишене вредности указују на анаеробни метаболизам и метаболичку ацидозу. Нормалне вредности лактата у крви зависе од врсте животиње, али се генерално крећу од 0,5 до 2,5 mmol/L. Концентрације изнад 5 mmol/L указују на озбиљне метаболичке поремећаје и захтевају хитну интервенцију. Праћење нивоа лактата је од кључне важности у ветеринарској медицини за процену критичних стања, праћење опоравка и процену прогнозе. Смањење лактата током терапије често указује на побољшање стања пацијента и ефикасност примењених третмана.

Лактат има значајну предиктивну вредност за преживљавање код пацијената у тешким критичним стањима или током сепсе и у интензивној нези. Примера ради, код паса са дилатацијом и торзијом желуца стопа преживљавања је 99% ако је лактат у плазми <6 mmol/L, док је стопа преживљавања 58% ако је та вредност >6 mmol/L.

Лактат дехидрогеназа (ЛДХ) је ензим присутан у готово свим ткивима организма и укључена је у метаболизам глукозе и производњу енергије. Активност ЛДХ у крви користи се као неспецифичан маркер оштећења ткива, јер се ослобађа у крвоток приликом оштећења ћелија. Код различитих животињских врста, повећане вредности ЛДХ могу указивати на различите патолошке процесе.

Пси - Код паса ЛДХ се користи као маркер за:

Оштећење јетре: Хепатитис, цироза или неоплазије.

Болести срца: Миокардитис или инсуфицијенција.

Оштећење мишића: Трауматске повреде, миозитис или дегенеративне болести.

Хемолитичке анемије: Разградња еритроцита може повећати ЛДХ.

Мачке - Код мачака ЛДХ се мери ради процене:

Болести јетре: Хепатична липидоза, холангиохепатитис или токсини.

Мишићних поремећаја: Трауме, инфламаторне или дегенеративне миопатије.

Хемолитичке болести: Инфекције као што су хемобартонелоза (микоплазмоза) или ФеЛВ.

Коњи - Код коња, ЛДХ је користан за праћење:

Оштећења мишића: Рабдомиолиза ("tuing-up" синдром) или повреде мишића.

Болести јетре: Холангиохепатитис или масна јетра.

Кардиомиопатије: Миокардитис или друге болести срца.

Колике: Некроза црева може изазвати повећање ЛДХ.

Говеда - Код говеда, ЛДХ се користи за детекцију:

Болести мишића: Трауматске повреде или нутритивна миопатија (недостатак селена и витамина Е).

Оштећења јетре: Фасциолоза, токсини или масна јетра.

Инфекција: Генерализоване инфекције које узрокују оштећење ткива.

Свиње - Код свиња ЛДХ може бити повишен услед:

Стреса и мишићног оштећења: Транспорт или неадекватно руковање.

Болести јетре: Вирусни хепатитис или токсично оштећење.

Инфекција: Системске инфекције које оштећују више ткива.

Птице - Код птица, ЛДХ се користи за процену:

Мишићних повреда: Услед повреда или метаболичких поремећаја.

Болести јетре: Хепатитис изазван токсинима или инфекцијама.

Стреса: Продужени стрес може изазвати оштећење ткива и повећање ЛДХ.

Рептили - Код рептила ЛДХ је мање специфичан, али може указивати на:

Оштећење јетре: Хепатопатије услед инфекција, токсина или неадекватних услова држања.

Мишићна оштећења: Повреде мишића или метаболички поремећаји.

Генерализоване инфекције: Бактеријске, гљивичне или паразитске болести које узрокују оштећење ткива.

ЛДХ је универзалан маркер оштећења ћелија и ткива код свих животињских врста, али његова интерпретација захтева додатне лабораторијске налазе и клиничке податке како би се прецизно одредио узрок повећања. Његова улога је посебно важна у процени оштећења јетре, мишића, срца и еритроцита.

Ламинин је гликопротеин који се налази у екстрацелуларном матриксу (ЕЦМ) и има кључну улогу у одржавању структуралне интегритета ткива, нарочито у базалним мембранама. Ламинин је укључен у многе биолошке процесе, укључујући адхезију, миграцију и пролиферацију ћелија, као и у формирање сложених структура у ткивима, посебно у мишићима, нервном систему и бубрежним структурама. Ламинин је врло специфичан за одређене врсте ткива и може се користити као биомаркер за различите болести које утичу на екстрацелуларни матрикс или оштећење базалних мембрана. Дијагностички значај ламинина код животиња огледа се у његовој примени у дијагностици и праћењу болести које утичу на здравље бубрежног, кардиоваскуларног, неуролошког и мишићног система. Повишени или снижени нивои ламинина могу указивати на патолошке промене у организму које захтевају даље истраживање и лечење. Ламинин се користи у дијагностици и праћењу следећих болести код животиња: оштећење бубрежне функције, где ламинин присутан у базалним мембранама бубрежних гломерула може указивати на акутну или хроничну бубрежну болест, као што је гломерулонефритис. Такође, код паса са остеоартритисом, повишени нивои ламинина могу указивати на прогресију болести. Код кардиомиопатије код паса, ламинин се користи за праћење оштећења срчаног мишића и фиброзе у срчаном ткиву. Такође, код животиња са фиброзама јетре, плућа и бубрега, ламинин се користи за праћење и дијагностику фиброзе која може утицати на функционалност органа. Ламинин се такође користи у неуролошким болестима, јер је присутан у базалним мембранама неурона и глија ћелија, па промена у његовим концентрацијама може указивати на неуролошке поремећаје. Његове повишене вредности указују на нарушену крвно-мождану баријеру током неуроинфламаторних болести. Такође, код мишићних обољења, ламинин је битан за структуру мишићних влакана, и његове повишене концентрације могу указивати на мишићну дистрофију или друге мишићне поремећаје. Ламинин је користан дијагностички биомаркер за процену стања различитих органа, укључујући бубреге, срце, мозак и мишиће, а повишене или снижене вредности могу указивати на различите патолошке промене које захтевају додатну дијагностику и лечење.

Леукоцитарна формула код различитих животињских врста одражавају значајне разлике у броју, пропорцијама и функцијама леукоцита, прилагођене специфичним физиолошким потребама и имунолошким изазовима сваке врсте. Код паса неутрофили су најдоминантнији леукоцити у леукоцитарној формули. Стрес код паса изазива повећање неутрофила (неутрофилију), лимфопенију и моноцитозу, док бактеријске инфекције доводе до неутрофилије са регенеративним помаком улево, карактерисаним присуством младих неутрофила. Паразитозе и алергије код паса често изазивају еозинофилију. Код мачака неутрофили доминирају, али лимфоцити могу бити релативно високи. Реакције на стрес код мачака, попут неутрофилије и лимфопеније, често су интензивније него код паса. Вирусне инфекције, попут ФелВ-а и ФИВ-а, могу довести до неутропеније и лимфопеније, док алергијска стања и паразитозе изазивају еозинофилију. Код говеда лимфоцити су бројнији од неутрофила у нормалним условима. Међутим, ране бактеријске инфекције изазивају неутропенију услед велике миграције неутрофила у ткива, док хроничне инфекције, попут туберкулозе и паратуберкулозе, често прате моноцитозу. Паразитозе код говеда такође могу узроковати еозинофилију. Код коња неутрофили су доминантни леукоцити, а моноцити су такође присутни у релативно високом броју. Стресни одговори код коња укључују неутрофилију са лимфопенијом, док акутне бактеријске инфекције изазивају изражену неутрофилију. Хроничне алергијске болести код коња често су праћене еозинофилијом. Код свиња неутрофили доминирају код одраслих животиња, док лимфоцити преовлађују код прасади. Стрес код свиња изазива лимфопенију и неутрофилију, док вирусне инфекције, попут ПРРС-а, могу проузроковати значајну лимфопенију. Код птица хетерофили, који су функционално аналогни неутрофилима, представљају доминантне леукоците, док лимфоцити заузимају друго место. Стрес код птица изазива хетерофилију са лимфопенијом, а вирусне инфекције могу довести до хетеропеније и лимфопеније. Код глодара лимфоцити су најбројнији леукоцити у формули. Промене у леукоцитарној формули код стреса су код глодара мање изражене него код већих животиња. Ове разлике између врста указују на значајну еволутивну прилагођеност имунолошког система специфичним изазовима окружења и физиолошким потребама.

Леукоцитоза представља повећање укупног броја леукоцита у периферној крви изнад нормалних референтних вредности, што може бити последица различитих фактора, укључујући инфекције, упале, стрес, неоплазије или физиолошке промене. Ово стање има специфичне узроке, манифестације и дијагностичке импликације које варирају међу различитим животињским врстама. Код паса, леукоцитоза се најчешће јавља услед бактеријских инфекција попут пиометре, пнеумоније или сепсе, као и гљивичних инфекција попут бластомикозе. Паразитске болести, попут дирофилариозе, такође су чест узрок, док стрес или примена кортикостероида изазивају стресни леукограм са повећањем броја неутрофила. Неоплазије попут леукемије и лимфома могу узроковати трајну леукоцитозу. Код мачака, вирусне инфекције попут ФелВ-а и ФИВ-а често доводе до секундарних бактеријских инфекција које изазивају леукоцитозу. Инфекције апсцесима, често услед повреда или угриза, као и паразитске болести попут токсоплазмозе, додатни су узроци. Код мачака се такође јавља физиолошка леукоцитоза током узбуђења или стреса, на пример, током транспорта или прегледа. Код коња, леукоцитоза је честа током инфекција и упала, попут ентеритиса, апсцеса или плеуропнеумоније, док ендотоксемија у раним фазама може изазвати сличну реакцију. Физиолошки стрес, попут интензивног

тренинга, изазива редистрибуцију леукоцита, док паразитске инфекције, попут инфекција стронгилидима, такође доприносе повећању леукоцита. Код говеда, леукоцитоза је често повезана са инфекцијама попут маститиса, метритиса или пнеумоније, као и са хроничним упалама, укључујући перитонитис или апсцесе у јетри услед миграције паразита попут Фасциола хепатица. Вирусне болести, попут инфекције Бовине Леукемиа Вирусом (БЛВ), могу изазвати специфичне облике леукоцитозе, укључујући лимфоцитозу, док гастроинтестиналне хелминтозе доприносе укупном повећању леукоцита. Код свиња, респираторне болести, укључујући инфекције узроковане актинобацилусом или микоплазмом, представљају чест узрок леукоцитозе. Инфекције коже, попут еризипелатозних лезија узрокованих ерисипелотриksom, такође могу изазвати повећање броја леукоцита, док инфекција цирцовирусом типа 2 доприноси леукоцитози у одређеним фазама. Стрес током транспорта или у лошим условима држања може изазвати сличну реакцију. Код птица, бактеријске инфекције, попут салмонелозе или кламидофилије, и гљивичне инфекције, попут аспергилозе, често су праћене леукоцитозом. Микотоксикозе узроковане контаминираном храном изазивају оштећење ткива и инфламацију, док паразити попут трихомонаса и реакције на вакцинацију додатно повећавају број леукоцита. Код рептила, хроничне бактеријске инфекције, попут стоматитиса код змија, и паразитске инфекције гастроинтестиналним протозоама и хелминтима изазивају леукоцитозу. Малнутриција може проузроковати компензаторну леукоцитозу у раним фазама као одговор организма на нутритивни дефицит. Општи узроци леукоцитозе код свих животињских врста укључују ране фазе сепсе, аутоимуне болести, леукемије и лимфопролиферативне болести, реакције на вакцинацију и физиолошке промене током трудноће и лактације, које повећавају имунолошке потребе организма.

Леукопенија, смањење укупног броја леукоцита у периферној крви испод референтних вредности, представља озбиљан поремећај имунолошког система. Ово стање је често повезано са инфекцијама, токсичним оштећењима коштане сржи или имунолошким дисфункцијама, а специфични узроци и манифестације разликују се међу различитим животињским врстама. Код паса, вирусне инфекције као што су парвовирус (CPV) и штенењак (дистемпер) често узрокују тешку леукопенију, посебно неутропенију, услед супресије коштане сржи. Имунолошки посредоване болести, као и хемотерапија или изложеност токсинима попут пестицида и бензола, могу значајно смањити производњу леукоцита. Код мачака, мачја панлеукопенија (FPV) изазива масовну деструкцију леукоцита, док вируси ФелВ и ФИВ утичу на супресију имунолошког система и појаву леукопеније. Паразитске болести, попут хемобартонелозе (*Mycoplasma haemofelis*), често су праћене леукопенијом, док стрес и малнутриција додатно слабе имунолошку функцију. Код коња, вирусне инфекције, попут инфекције вирусом Инфективне анемије коња (Equine infective anemia, EIA) или херпесвирусом коња (EHV), могу довести до супресије коштане сржи и леукопеније. Ендотоксемија и сепса, често проузроковане гастроинтестиналним поремећајима попут колика, изазивају исцрпљивање леукоцита. Дуготрајна примена лекова, попут фенилбутазона, може оштетити коштану срж и смањити број леукоцита. Код говеда, вирус бовине вирусне дијареје (BVD) изазива лимфоцитопенију и неутропенију, док инфекција леукемијским вирусом (BLV) може проузроковати леукопенију у одређеним фазама болести. Акутни маститис и метритис често резултирају исцрпљивањем леукоцита, док контаминација хране микотоксинима додатно инхибира хематопоезу. Код свиња, вирусне инфекције попут цирцовирусне

инфекције типа 2 (PCV-2) и класичне свињске куге (CSF) узрокују тешку леукопенију и имунодефицијенцију. Бактеријске инфекције, попут салмонелозе, могу значајно смањити број леукоцита, док стрес и лоши услови држања додатно погоршавају имунолошку функцију. Код птица, вирусне инфекције попут Psittacine Beak and Feather Disease (PBFD) и аденовирусних инфекција често су праћене леукопенијом, док микотоксикозе, посебно афлатоксини, инхибирају функцију коштане сржи. Хроничне паразитске инфекције, попут *Trichomonas gallinae*, додатно доприносе смањењу броја леукоцита. Код рептила, хроничне инфекције, попут стоматитиса или инфекција респираторног тракта, често изазивају исцрпљивање леукоцита, док малнутриција и недостатак есенцијалних витамина и минерала утичу на функцију коштане сржи. Спорији метаболички процеси и успорена хематопоеза такође доприносе физиолошкој леукопенији код рептила. Општи узроци леукопеније код свих животињских врста укључују сепсу, која доводи до миграције леукоцита у ткива током озбиљних инфекција, изложеност токсинима, лошу исхрану са недостатком витамина Б12 и генетске поремећаје. Код паса је цикличка неутропенија, која се јавља код колија, пример наслеђене болести која узрокује периодичну леукопенију.

Леукемије су неопластични поремећаји хематопоезских ћелија карактерисани неконтролисано пролиферацијом леукоцита или њихових прекурсора у коштаној сржи и периферној крви. Оне се деле на акутне и хроничне, у зависности од прогресије болести и диференцијације ћелија, и могу бити лимфоидне или мијелоидне, у зависности од порекла захваћених ћелија. Леукемије су забележене код различитих животињских врста и имају различите узроке, клиничке манифестације и лабораторијске налазе. Код паса, акутне лимфобластне леукемије (ALL) често захватају младе ћелије у крви и коштаној сржи, док хроничне лимфоцитне леукемије (CLL) обично погађају старије псе и карактеришу се спором прогресијом и повећаним бројем зрелих лимфоцита. Акутне мијелоидне леукемије (AML) су ређе, али озбиљне, док хроничне мијелоидне леукемије (CMML) могу изазвати благу леукоцитозу и спленомегалију. Код мачака, лимфобластне леукемије су често повезане с инфекцијама вирусом мачје леукемије (FeLV) или мачје имунодефицијенције (FIV). Ове леукемије често изазивају панцитопенију, летаргију, губитак тежине и повећање лимфних чворова. Код коња, леукемије су ретке, али лимфоцитне форме се могу јавити са знаковима анемије, леукоцитозе и спленомегалије. Говеда су најчешће погођена ензоотском бовином леукозом узрокованом вирусом бовине леукемије (BLV), који углавном изазива лимфосаркому, али се може манифестовати и леукемијом са леукоцитозом и лимфоцитозом. Код свиња су леукемије ретке и обично се дијагностикују постмортално. Лабораторијски налази код леукемија укључују леукоцитозу, присуство бластних ћелија у крви и коштаној сржи, анемију и тромбоцитопенију. Дијагноза се потврђује цитолошким и хистопатолошким прегледом, а имунофенотипизација и молекуларне методе се користе за прецизно одређивање врсте леукемије. Терапија леукемија укључује хемотерапију, имуносупресиве и супортивне мере, али је прогноза често лоша код акутних облика, док хроничне леукемије могу имати бољу контролу уз адекватно лечење.

Леукемије код паса класификују се на основу прогресије болести (акутне и хроничне) и порекла захваћених ћелија (лимфоидне или мијелоидне). Ова класификација омогућава боље разумевање болести, дијагностички приступ и избор терапије.

1. Акутне леукемије
 - Акутна лимфобластна леукемија (ALL): Карактерише је пролиферација незрих лимфоидних ћелија (лимфобласта) у коштаној сржи и крви. Обично погађа младе псе и има брзу прогресију. Клинички знаци укључују летаргију, губитак апетита, анемију, тромбоцитопенију и леукоцитозу са присуством бластних ћелија. Прогноза је обично лоша.
 - Акутна мијелоидна леукемија (AML): Ређа од ALL, укључује пролиферацију незрих мијелоидних ћелија. Симптоми су слични као код ALL, али лабораторијски налази показују доминацију мијелобласта у крви и коштаној сржи.
2. Хроничне леукемије
 - Хронична лимфоцитна леукемија (CLL): Карактерише је спор раст и присуство зрих лимфоцита у крви и коштаној сржи. Најчешће погађа старије псе и има бољу прогнозу од акутних облика. Клинички симптоми су често благи и укључују летаргију, лимфаденопатију и благу анемију. Леукоцитоза са лимфоцитозом је уобичајен лабораторијски налаз.
 - Хронична мијелоидна леукемија (CML): Ретка форма леукемије код паса, карактерише се повећаним бројем зрих мијелоидних ћелија у крви. Клинички знаци могу бити нејасни, а болест се често открива случајно током рутинских лабораторијских испитивања.
3. Неодређене леукемије
 - Понекад се леукемије не могу лако класификовати због мешовитих карактеристика или недостатка специфичних маркера. У овим случајевима користи се додатна дијагностика, попут имунофенотипизације и молекуларних тестова, за прецизније одређивање типа леукемије.
4. Специјални облици леукемија
 - Еритролеукемија: Ретка форма која укључује пролиферацију еритроидних и мијелоидних прекурсора.
 - Мастоцитна леукемија: Малигна пролиферација мастоцита у крви и коштаној сржи, такође ретка код паса.
 - Мегакариоцитна леукемија: Карактерише се неконтролисано пролиферацијом мегакариоцита, прекурсора тромбоцита.

Цитохемијски налази код леукемија код паса су кључни за диференцијацију типова леукемија и идентификацију врсте захваћених ћелија. Користе се специфичне боје и ензимски тестови како би се одредила природа малигнућ ћелија. Ево главних налаза:

1. Акутна лимфобластна леукемија (ALL):
 - Лимфобласти су обично ПАС (периодична киселина-Шифова реакција) позитивни, што указује на присуство гликогена у цитоплазми.
 - Негативни резултати за мијелопероксидазу (МПО) и неспецифичну естеразу, што искључује мијелоидну природу.
 - TdT (терминална деоксинуклеотидил трансфераза) може бити позитиван, указујући на незреле лимфоидне ћелије.
2. Акутна мијелоидна леукемија (AML):

- Позитивност за мијелопероксидазу (МПО) у мијелобластима, што потврђује мијелоидно порекло.
 - Неспецифична естераза је често позитивна код моноцитних и мијеломоноцитних леукемија.
 - ПАС реакција може показати дифузну или грануларну позитивност.
3. Хронична лимфоцитна леукемија (CLL):
- Зрели лимфоцити су обично ПАС негативни или показују слабу реактивност.
 - Нема активности мијелопероксидазе или естераза, што је у складу са лимфоидним пореклом.
4. Хронична мијелоидна леукемија (CML):
- Зреле мијелоидне ћелије су позитивне за мијелопероксидазу.
 - Активност неспецифичне естеразе је минимална или одсутна, у зависности од линије ћелија.
5. Моноцитне леукемије:
- Неспецифична естераза је снажно позитивна у моноцитима и њиховим прекурзорима.
 - ПАС реактивност може бити фокална или дифузна.
 - Активност мијелопероксидазе је слаба или одсутна.
6. Мегакариоцитне леукемије:
- Мегакариоцити и њихови прекурсори су често позитивни на специфичне боје за тромбоцитне маркере, попут α -нафтил бутират естеразе.
7. Еритролеукемије:
- Еритроидне ћелије показују ПАС позитивност са снажно грануларним обрасцем.
 - Мијелоидне компоненте су позитивне на мијелопероксидазу.

Леукемије код мачака представљају хетерогену групу хематопоеетских неоплазми које се карактеришу пролиферацијом малигних леукоцитних ћелија у коштаном сржи и/или периферној крви. Ове болести могу бити акутне или хроничне, лимфоидног или мијелоидног порекла, а њихова класификација и манифестације зависе од захваћених ћелијских линија. Класификација леукемија код мачака:

1. Акутне леукемије
- Акутна лимфобластна леукемија (ALL):
Пролиферација незрих лимфоидних ћелија (лимфобласти). Очитује се панцитопенијом (анемија, неутропенија, тромбоцитопенија), а лимфобласти се налазе у периферној крви и коштаном сржи.
 - Акутна мијелоидна леукемија (AML):
Обухвата различите подтипове, укључујући мијелобластну, промијелоцитну, моноцитну и еритроидну леукемију. Карактерише је присуство мијелобласта у крви и коштаном сржи.
2. Хроничне леукемије
- Хронична лимфоцитна леукемија (CLL):
Пролиферација зрих лимфоцита, најчешће Т-лимфоцита. Ова болест

обично има спор ток и може се случајно открити приликом рутинских анализа.

- Хронична мијелоидна леукемија (СМЛ): Обухвата пролиферацију зрихих и функционалних мијелоидних ћелија, укључујући неутрофиле, еозинофиле и базофиле. Ретка код мачака.

Узроци леукемија код мачака

- Вирусне инфекције: Вирус мачје леукемије (ФелВ) је главни узрочник леукемија код мачака, нарочито лимфоидних типова. Вирус мачје имунодефицијенције (ФИВ) такође повећава ризик.
- Генетски фактори: Предиспозиција одређених линија мачака за развој хематопоеетских неоплазми.
- Токсини и карциногени: Изложеност хемијским супстанцама или лековима који утичу на хематопоезу.

Дијагноза

- Хематолошки налази: Присуство абнормалних ћелија (бласти или зреле ћелије) у периферној крви. Панцитопенија или леукоцитоза зависно од типа леукемије.
- Клинички: Симптоми варирају у зависности од типа леукемије и укључују летаргију, анорексију, губитак тежине, бледило слузокоже (због анемије), повремену грозницу, увећане лимфне чворове, спленомегалију и хепатомегалију. Код акутних облика болест може имати брзу прогресију са озбиљним хематолошким поремећајима, док су симптоми хроничних облика често блажи и спорије напредују.
- Цитолошка анализа коштане сржи: Повећан број бласта код акутних леукемија или зрихих леукоцита код хроничних облика.
- Цитохемијски тестови: Боје за мијелопероксидазу, неспецифичне естеразе и ПАС за диференцијацију ћелијских линија.
- Вирусне анализе: Тестирање на ФелВ и ФИВ за процену етиолошке повезаности.
- Имунофенотипизација: Проток цитометрија за идентификацију захваћене ћелијске линије и диференцијацију лимфоидних од мијелоидних облика.

Лимфоцитоза је стање повећаног броја лимфоцита у периферној крви изнад нормалних референтних вредности, које може бити физиолошко, реактивно или последица патолошких процеса. Код паса, лимфоцитозу могу изазвати хроничне инфекције попут бруцелозе, вирусне инфекције попут аденовируса и парамиксовируса, неоплазије попут лимфома и лимфоцитне леукемије, као и ретке стрес-индуковане реакције код младих јединки услед стимулације аутономног нервнoг система. Код мачака, вирусне болести попут мачје леукемије (ФелВ) и имунодефицијенције (FIV), паразитске инфекције попут токсоплазмозе, медијастинални лимфоми и физиолошке реакције код младих јединки често узрокују лимфоцитозу. Код коња, вирусне инфекције попут инфективне анемије копитара (EIA) и херпесвируса коња (EHV), хроничне инфламаторне болести попут ендометритиса и апсцеса, као и физиолошке реакције на стрес или тренинг, могу бити узроци лимфоцитозе. Код говеда, вирус ензоотске леукозе (BLV), паразитозе

попут инфекција хелминтима и протозоама као што је *Theileria annulata*, те реактивне реакције након вакцинације често доводе до лимфоцитозе. Код свиња, вирусне инфекције попут цирковируса типа 2 (PCV-2) и класичне свињске куге (CSF), хроничне инфекције попут салмонелозе и лептоспирозе, као и ретки лимфоми, представљају кључне узроке. Код птица, лимфоцитоза је повезана са вирусним болестима попут Марекове болести и авијарног леукозног вируса (ALV), паразитским инфекцијама попут кокцидија и хемопротозоа, те реакцијама након вакцинације против Марекове болести или Невцастлеске болести. Код рептила, хроничне бактеријске или вирусне инфекције, паразити попут криптоспоридијума или ентамебе, као и редистрибуција лимфоцита током стреса, главни су узроци. Општи узроци лимфоцитозе код свих врста укључују хроничну стимулацију имуног система услед дуготрајних бактеријских, вирусних или гљивичних инфекција, аутоимуне болести попут системског еритемског лупуса (SEL), терапију кортикостероидима која у раним фазама може повећати број лимфоцита, као и физиолошке промене изазване стресом, узбуђењем или физичким напором. Када се ради о лимфоцитима значајно је да се испита њихова морфологија, па тако велики или атипични лимфоцити указују на акутну лимфобласну леукемију, док добро диференцирани лимфоцити могу бити знак хроничне леукемије.

Лимфопенија означава смањење броја лимфоцита у периферној крви испод референтних вредности, што је често знак имунолошке супресије и може бити последица инфекција, стреса, лекова, токсина или оштећења лимфоидног ткива. Код паса, лимфопенију узрокују вирусне инфекције попут парвовируса паса (CPV), који уништава лимфоците у лимфним чворовима, и дистемпера, који смањује лимфоците у акутним фазама, док хронични стрес, глукокортикоиди, хемотерапија и тешке бактеријске инфекције попут сепсе такође доприносе смањењу броја лимфоцита. Код мачака, мачји панлеукопенија вирус (FPV) уништава лимфоците у лимфним ткивима, док ФИВ узрокује прогресивно исцрпљивање Т-лимфоцита, а ФелВ доводи до лимфопеније у каснијим фазама; стрес, транспорт, хроничне болести и неоплазије додатно погоршавају стање. Код коња, вирусне болести попут херпесвируса коња (*Equine herpes virus*, EHV) и инфективне анемије коња (ЕИА) изазивају лимфопенију, док ендотоксикоза, сепса, гастроинтестинални проблеми, стрес и транспорт често узрокују физиолошку редукцију лимфоцита. Код говеда, вирус бовине вирусне дијареје (BVD) узрокује тешку лимфопенију уништавањем лимфоцита, док BLV у раним фазама може изазвати смањење њиховог броја; паразитске инфекције хелминтима и микотоксини попут афлатоксина додатно доприносе овом стању. Код свиња, цирковирус тип 2 (PCV-2) узрокује тешку лимфопенију у оквиру синдрома post-weaning multi-systemic wasting syndrome (PMWS), док вирус класичне свињске куге (CSF), стрес, транспорт, лоши услови држања и вакцинација могу изазвати привремену лимфопенију. Код птица, вирусне инфекције попут *Psittacine Beak and Feather Disease* (PBFD) и аденовирусних инфекција смањују број лимфоцита, док стрес, гладовање и микотоксикозе додатно оштећују имунолошки систем. Код рептила, хроничне бактеријске и гљивичне инфекције, малнутриција и физиолошки услови попут стреса и хибернације узрокују лимфопенију због успорене функције имунолошког система. Општи узроци лимфопеније код свих врста укључују имуносупресивне лекове попут кортикостероида и цитотоксичних лекова, аутоимуне болести попут системског еритемског лупуса, токсине, радијацију и тешке системске инфекције попут сепсе, ендотоксемије и шока, који исцрпљују залихе лимфоцита.

Липопротеини су кључни транспортни системи за холестерол, триглицериде и друге липиде у крви код свих кичмењака, али њихов састав, функција и значај варирају међу различитим животињским врстама. Липопротеини се деле у неколико главних класа: хиломикроне, липопротеине врло ниске густине (ВЛДЛ), липопротеине ниске густине (ЛДЛ) и липопротеине високе густине (ХДЛ). Свака од ових класа има специфичне улоге у метаболизму липида и различит значај код појединих врста.

Код преживара, попут говеда и оваца, ХДЛ представља доминантан облик липопротеина у плазми, што је карактеристично за ову групу. Они имају ниже концентрације ЛДЛ и ВЛДЛ у поређењу са моногастричним животињама, јер преживање и ферментација у бурагу утичу на метаболизам липида. Преживари уносе мање количине масти путем исхране, а већина липида у крвоток доспева после синтезе у јетри.

Код свиња, као моногастричних животиња, ЛДЛ је доминантан липопротеин, што је слично људима. Ове животиње показују висок капацитет за синтезу холестерола у јетри, а исхрана богата мастима може значајно повећати ниво ЛДЛ и ВЛДЛ. Свиње се често користе као модел за проучавање људског метаболизма липида због сличности у саставу липопротеина.

Код паса и мачака, ХДЛ доминира у плазми, док је концентрација ЛДЛ знатно нижа него код људи. Пси и мачке метаболизују масти на специфичан начин због високопротеинске и високомасне исхране коју њихова природна прехранбена навика подразумева. Код паса, исхрана може значајно утицати на ниво липопротеина, док су мачке познате по специфичним потребама за есенцијалним масним киселинама, што утиче на њихов липидни профил.

Код птица, као што су кокошке, липопротеински профил карактерише висок удео ВЛДЛ, посебно током периода ношења јаја, јер се липиди транспортују до јајника за синтезу жуманцета. ХДЛ је такође значајан, али има другачији састав у поређењу са сисарима. Липопротеински метаболизам код птица је прилагођен њиховим специфичним физиолошким потребама.

Код риба, липопротеински састав и функција варирају зависно од врсте и окружења. Рибе које живе у хладнијим водама имају специфичне масне киселине у својим липопротеинима, прилагођене ниским температурама. Код многих врста риба ХДЛ је доминантан, али значај липопротеина зависи од нивоа активности и исхране.

Хиперлипидотеиније код паса се класификују на основу врсте липопротеина чија је концентрација повишена у серуму. Постоје примарне и секундарне хиперлипидотеиније, а класификација се врши према Фредриксоновом систему, који се користи и код људи. Код паса се разликују следеће врсте:

Тип I (Хиперхиломикронемија) - Ова форма је ретка код паса и карактерише се повећаном концентрацијом хиломикрона у серуму. Обично је повезана са генетским дефектима ензима липопротеин липазе (ЛПЛ) или његовог активатора, аполипидотеина Ц-II. Резултира накупљањем триглицерида у крви и може изазвати панкреатитис.

Тип IIa (Хиперхолестеролемија) - Карактерише се повећањем нивоа ЛДЛ (липидотеина ниске густине) и холестерола у серуму. Ово може бити резултат примарних генетских поремећаја или секундарно узроковано болестима попут хипотиреозе или хиперадренокортицизма.

Тип IIb (Комбинована хиперлипидемија) - Обухвата повећање ЛДЛ и ВЛДЛ (липидотеина врло ниске густине) у серуму. Може се јавити код паса са примарном

хиперлипидемијом или као последица метаболичких поремећаја, попут дијабетеса мелитуса или Кушинговог синдрома.

Тип III (Дисбеталипопротеинемија) - Овај тип је реткост код паса и карактерише се абнормалностима у метаболизму ИДЛ (интермедијарних липопротеина). Повезан је са повишењем нивоа холестерола и триглицерида.

Тип IV (Хипертриглицеридемија) - Најчешћи облик хиперлипидемије код паса, често уочљив код пасмина склоних примарној хиперлипидемији, као што су минијатурни шнауцери. Повезан је са повећањем триглицерида и ВЛДЛ у серуму и често је фактор ризика за панкреатитис.

Тип V (Комбинована хиперлипидемија са хиломикронима и ВЛДЛ) - Карактерише се повишењем триглицерида због присуства хиломикрона и ВЛДЛ. Повезана је са метаболичким поремећајима или генетским дефектима.

Класификација хиперлипидемије код паса има значајну улогу у одређивању узрока и терапијског приступа. Мерење липидног профила (холестерола, триглицерида, ЛДЛ, ХДЛ и ВЛДЛ) у серуму, заједно са идентификацијом основних болести, омогућава прилагођавање терапије, која може укључивати промену исхране, контролу основних болести и примену лекова за снижавање липида.

Липаза је ензим који разграђује триглицериде у слободне масне киселине и глицерол, а примарно се лучи из панкреаса, иако је присутна и у желуцу, цревима и масном ткиву. Концентрација липазе у крви користи се као дијагностички маркер за обољења панкреаса и других стања повезаних са метаболизмом масти, а њена дијагностичка важност и нормалне вредности могу значајно варирати код различитих животињских врста.

Код паса, липаза има кључну улогу у дијагностици панкреатитиса, при чему је панкреасна липаза специфична за псе (сPLI) веома осетљив и специфичан тест који мери само липазу пореклом из панкреаса. Повишене вредности липазе код паса најчешће указују на панкреатитис, али се могу јавити и код других стања, као што су опструкција панкреасног канала, гастроинтестинални поремећаји попут перфорације црева или улкуса, бубрежна инсуфицијенција због смањеног излучивања липазе, или трауме абдомена. Код мачака, панкреатитис је такође главни разлог повећања липазе, али се мачја панкреасна липаза специфична (fPLI) сматра поузданијим маркером од укупне липазе. Поред панкреатитиса, повишене вредности липазе код мачака могу указивати на обољења јетре, гастроинтестиналне поремећаје или, у ретким случајевима, туморе панкреаса. Код коња липаза има мању дијагностичку важност јер су панкреасни поремећаји код ове врсте ретки, али благо повишење липазе може указивати на проблеме са варењем масти или ретке случајеве панкреатитиса. Код преживача, попут говеда и оваца, липаза такође није значајан дијагностички маркер због исхране базиране на влакнима, која не захтева интензивну липолитичку активност, док се повишене вредности ретко јављају код обољења јетре или панкреаса. Код свиња се липаза може користити за процену панкреатитиса, иако су панкреасни поремећаји код ове врсте ретки. Код птица и рептила липаза има ограничену клиничку примену, али њене вредности могу бити повишене код обољења јетре или панкреаса.

Повећање липазе у серуму најчешће је повезано с акутним или хроничним панкреатитисом код паса и мачака, али може указивати и на гастроинтестиналне поремећаје попут опструкције или перфорације, бубрежну инсуфицијенцију, обољења

јетре попут хепатичке липидозе код мачака, туморе панкреаса или трауму абдомена. Код паса се повишене вредности липазе могу јавити и услед примене кортикостероида без присуства болести. Снижене вредности липазе су ређе и најчешће указују на егзокрину инсуфицијенцију панкреаса (EPI), стање у којем панкреас не производи довољно ензима за варење. Ово стање је најчешће код паса, посебно код раса попут немачких овчара и роугх цоллие, док је код мачака и других врста ређе.

Панкреасна липаза специфична за псе (сPLI) и мачке (fPLI) представљају стандардне тестове за дијагнозу панкреатитиса јер омогућавају прецизно откривање панкреасних поремећаја. Ови тестови мере искључиво ензиме пореклом из панкреаса, чиме се елиминише интерференција липазе из других ткива. Када се комбинују са ултразвуком и другим лабораторијским параметрима, попут амилазе и Ц-реактивног протеина, омогућавају рано откривање панкреатитиса, праћење тока болести и процену одговора на терапију.

Магнезијум (Mg) - Хипо- и хипермагнеземија код животиња резултат су различитих узрока који утичу на унос, апсорпцију, дистрибуцију и излучивање магнезијума, есенцијалног минерала кључног за многе биолошке процесе, укључујући ензимску активност, синтезу протеина, функцију мишића и нервну проводљивост. Хипомагнеземија се често јавља услед недовољног уноса магнезијума, посебно код животиња које се хране травом са ниским садржајем овог минерала или у областима са земљиштима осиромашеним магнезијумом. Смањена апсорпција магнезијума може бити последица гастроинтестиналних поремећаја, пролива или присуства високих концентрација калијума у исхрани, што омета његову апсорпцију у цревима. Повећано излучивање магнезијума настаје код хроничних бубрежних болести или услед употребе диуретика, који повећавају губитак овог минерала путем урина. Такође, редистрибуција магнезијума у организму, као што је случај код метаболичких поремећаја попут кетоацидозе или хипоалбуминемије, може довести до смањења биолошки доступног магнезијума у плазми. Насупрот томе, хипермагнеземија је често узрокована прекомерним уносом магнезијума, што се дешава код животиња које конзумирају воде богате магнезијумом или због предозирања суплементима овог минерала. Смањено излучивање магнезијума због хроничних бубрежних болести или оштећења бубрега смањује способност организма да елиминише вишак магнезијума, што резултира његовим повећањем у крви. Поред тога, мобилизација магнезијума из ткива, која се може јавити услед траума, сепсе или масивних трансфузија, доприноси повећању његовог нивоа у крвотоку. Ови поремећаји у концентрацији магнезијума значајно утичу на функцију мишића, нервног система и кардиоваскуларног система код животиња, па је разумевање њихових узрока од кључног значаја за правилну дијагностику и лечење како би се одржала равнотежа овог минерала у организму.

Малонил диалдехид (MDA) је продукт липидне пероксидације и важан биомаркер оксидативног стреса у организму. Његово повећање у крви и ткивима указује на интензивну пероксидацију масти, која настаје као последица неравнотеже између производње реактивних кисеоничних врста (РОС) и антиоксидативне одбране организма. Оксидативни стрес је један од главних узрока повишених вредности МДА и може бити изазван метаболичким поремећајима, инфламаторним процесима, инфекцијама или физичким напором, при чему РОС нападају полинезасићене масне киселине у ћелијским

мембранама. Болести јетре, као што су масна јетра, хепатитис или цироза, додатно доприносе повећању МДА јер ометају детоксикационе процесе и нарушавају редокс равнотежу. Метаболички поремећаји, попут кетозе, дијабетеса мелитуса или хиперлипидемије, такође повећавају мобилизацију масти и њихово оксидативно разлагање, што доводи до повишења МДА. Код преживара, кетолактичка стања често прате повећане концентрације МДА услед повећаног ослобађања НЕФА и присуства оксидативног стреса. Неадекватан унос антиоксиданаса, као што су витамини Е и селен, или глутатион, ослабљује антиоксидативну одбрану организма, док храњење оксидираним мастима или некавалитетном храном може додатно повећати ниво МДА. Продужени физички напор или стресне ситуације, као што су транспорт или интензиван рад, повећавају оксидативни стрес и липидну пероксидацију, што је изражено код коња у трци, паса у раду и других активних животиња. Поред тога, излагање токсичним материјама, као што су пестициди, тешки метали, микотоксини или индустријски загађивачи, изазива оксидативни стрес и повећава концентрацију МДА. Повишене вредности овог биомаркера указују на оштећење ћелијских мембрана, инфламаторне процесе, метаболичке поремећаје и потенцијалну дисфункцију органа.

Матрикс металопротеиназе (ММПс) су ензими који играју кључну улогу у разградњи екстрацелуларног матрикса (ЕЦМ) и у одржавању равнотеже између синтезе и деградације различитих компоненти матрикса, као што су колаген, еластин, ламинин и протеоглигани. ММПс се активирају у одговору на различите физиолошке и патолошке стимулансе, а њихов ниво у организму може бити показатељ различитих здравствених проблема код животиња. Постоји неколико врста ММПс, као што су ММП-1 (колагеназа), ММП-2 (гелатиназа), ММП-3 (стромелизин) и ММП-9 (гелатиназа Б), а њихове концентрације у серуму, плазми или урину могу се користити као дијагностички маркери за процену стања различитих болести. Дијагностички значај ММПс код животиња огледа се у њиховој примени у дијагностици и праћењу болести које утичу на мека ткива, крвне судове и коштане структуре. Повишене вредности ММПс могу указивати на упалне процесе, оштећење ткива, као и на малигнитете. На пример, код паса са остеоартритисом ниво ММП-3 и ММП-9 може бити повишен, што указује на активност болести и потенцијалну деструкцију зглобова. ММПс се такође користе као биомаркери за дијагностику и праћење тумора. ММП-2 и ММП-9 су повезани са инвазивношћу тумора, јер омогућавају туморима да пробију екстрацелуларни матрикс и метастазирају. У малигним обољењима као што су лимфоми, карциноми дојке или плазмоцитоми, повећане вредности ММПс могу бити знак прогресије болести и ширења метастаза. ММПс такође имају дијагностички значај у контексту кардиоваскуларних болести код животиња, као што је дилатативна кардиомиопатија код паса. Повишени нивои ММП-2 и ММП-9 могу указивати на оштећење срчаних мишића и промене у структури срчаних зидова, што може указивати на лошу прогнозу и потребу за додатним третманима. Такође, у болестима као што су хепатична фиброза или бубрежна фиброза, ММПс се користе за праћење оштећења и прогресије болести. Повишене концентрације ММП-2 могу указивати на озбиљно оштећење јетре или бубрега, као и на развој фиброзе која може угрозити функционалност тих органа. С обзиром на њихову улогу у ремоделирању матрикса, ММПс се такође користе за праћење процеса регенерације ткива и репарације. У терапији након повреда или операција, ниво ММП-1 и ММП-2 може указивати на активност процеса зацељивања рана или регенерације ткива, што је од помоћи при праћењу напретка рехабилитације.

Матрикса металопротеиназе играју кључну улогу у процени патолошких процеса који укључују разградњу и ремоделирање екстрацелуларног матрикса. Повишене концентрације ММПс могу бити користан дијагностички алат за детекцију и праћење различитих болести код животиња, укључујући упалне болести, туморе, кардиоваскуларне поремећаје и оштећење органа. ММП су веома значајне у процесу развоја ламинитиса и хромости код коња и говеда. Праћење нивоа ММПс омогућава ветеринарима боље разумевање прогресије болести и ефикасно лечење, док се такође може користити за процену одговора на терапију и предвиђање прогнозе.

Метхемоглобин - Метхемоглобин је облик хемоглобина у коме је гвожђе у феричној (Fe^{3+}) оксидационом стању, чиме се губи могућност реверзибилног везивања кисеоника. Метхемоглобинемија код животиња може бити изазвана различитим факторима. Један од главних узрока су тровања оксидансима, као што су нитрати, нитрити, хлоридни оксиданси, парацетамол, феноли и деривати анилина, који се могу наћи у контаминираној храни, води или одређеним лековима. Генетски фактори такође играју важну улогу, посебно наследни недостаци ензима као што је цитохром-b5 редуктаза, који је одговоран за враћање метхемоглобина у његов функционални облик. Поред тога, конзумација биљака које садрже високе нивое нитрата, као што су луцерка, цвекла и одређене врсте траве, такође може довести до развоја метхемоглобинемије. Симптоми метхемоглобинемије код животиња могу значајно варирати у зависности од нивоа метхемоглобина у крви. Код благе метхемоглобинемије, која обухвата ниво до 10–20%, симптоми су често минимални или се јављају као летаргија. Умерена метхемоглобинемија (20–50%) карактерише се цијанозом, што подразумева плавичасту нијансу мукозних мембрана, као и тахикардијом и диспнејом. У тешким случајевима, када ниво метхемоглобина прелази 50%, појављују се озбиљни симптоми као што су тешко дисање, слабост, неуролошки поремећаји, колапс, а у екстремним ситуацијама може доћи до смрти. Метхемоглобинемија се можда неће лако уочити у венским узорцима крви, јер смеђкаста боја метхемоглобина није јасно видљива када је помешана са деоксихемоглобином. Међутим, када деоксихемоглобин веже кисеоник и формира оксихемоглобин, постаје светло црвене боје, што чини смеђкасту нијансу метхемоглобина уочљивијом у оксигенисаним узорцима. Због тога се може примењивати једноставан тест који омогућава брзо оксигенисање венског узорка крви и утврђивање клинички значајног нивоа метхемоглобина. Кап крви пацијента се ставља на комад упијајућег белог папира, док се поред ње ставља кап нормалне контролне крви. Ако је садржај метхемоглобина 10% или више, крв пацијента ће имати приметно смеђу боју у поређењу са светло црвеном бојом контролне крви. Прецизно одређивање нивоа метхемоглобина захтева лабораторијску анализу узорка крви.

Моноцитоза означава повећан број моноцита у периферној крви изнад референтних вредности и често је повезана са хроничним инфламаторним процесима, стресом или одређеним инфекцијама. Моноцити, као врста леукоцита, имају кључну улогу у фагоцитози, имунолошком одговору и репарацији ткива. Код паса, моноцитоза се јавља услед хроничних бактеријских инфекција попут пиометре, апсцеса и остеомијелитиса, као и паразитских инфекција, попут диروفиларије. Стрес-индукована моноцитоза, под утицајем глукокортикоида, аутоимуне болести попут системског еритемског лупуса (СЕЛ) и инфламаторне болести црева (ИБД), те неоплазије попут хемангиосаркома и лимфома,

често су узроци овог стања код паса. Код мачака, хроничне бактеријске инфекције, вирусне болести попут ФелВ и ФИВ у хроничној фази, паразитске болести као што су токсоплазмоза и хемобартонелоза, те неоплазије попут лимфома и леукемија, могу изазвати повећање броја моноцита. Код коња, хронични инфламаторни процеси попут ендометритиса, апсцеса и перитонитиса, паразитске инфекције, попут ларви црва *Strongylus vulgaris*, те продужени стрес узрокују моноцитозу. Код говеда, моноцитоза је повезана с хроничним маститисом, метритисом, ендокардитисом, туберкулозом, инфекцијама попут *Theileria annulata* и микотоксикоза изазваних контаминираном храном. Код свиња, вирусне инфекције, попут цирковируса типа 2 (ПЦВ-2), бактеријске болести попут салмонелозе и лептоспирозе, те паразитске инфекције хелминтима, као што је аскаридоза могу довести до моноцитозе. Код птица, хроничне бактеријске инфекције попут Муцобацтериум авиум, гљивичне болести попут аспергилозе, те стрес и траума изазивају повећање моноцита. Код рептила, системске бактеријске инфекције, грануломатозне болести, паразити попут протозоа или хелминта, те регенерација ткива након повреда често су повезани са моноцитозом. Општи узроци моноцитозе код свих животиња укључују хроничне инфекције попут грануломатозних болести, бактеријске и гљивичне инфекције, паразитске инфестације хелминтима и протозоама, стрес и деловање глукокортикоида, неоплазије с инфламаторном компонентом, аутоимуне болести са трајном активацијом моноцита, те репарацију ткива и трауме, где моноцити мигрирају на места оштећења ради фагоцитозе и обнављања.

Када дође до супресије хематопоезе са настанком неутропеније, појава моноцитозе уз присуство неутропеније указује на то да долази до скорог опоравка хематопоезног система, те да ће се и број неутрофила повећати због тога што се моноцити много брже опорављају од полиморфонуклеара. Ово је посебно значајно код давања хемотерапије.

Моноцитопенија означава смањење броја моноцита у периферној крви испод референтних вредности и, иако ређа од моноцитозе, може указивати на одређене болести или физиолошке поремећаје. Моноцити, као кључни фагоцити имунолошког система, имају важну улогу у борби против инфекција и репарацији ткива, па њихово смањење може ослабити имунолошку функцију. Узроци моноцитопеније укључују вирусне инфекције које супресирају хематопоезу или уништавају имунолошке ћелије, као што су парвовирусна инфекција код паса и мачака или инфекција вирусом инфективног ринотрахеитиса (ИБР) код говеда. Акутне фазе бактеријских инфекција често изазивају општу леукопенију, укључујући моноцитопенију, као што су акутна салмонелоза код свиња или сепса код коња. Имуносупресивне болести, попут ФелВ и ФИВ код мачака или хроничних имунодефицијенција и неоплазија код паса, често су праћене смањењем моноцита. Терапијски узроци, попут продужене примене кортикостероида или хемотерапије, могу инхибирати функцију коштане сржи и смањити број моноцита. Поремећаји коштане сржи, као што су апластична анемија код паса и мачака или микотоксикоза код говеда и свиња, такође су чести узроци моноцитопеније. Стрес и физиолошки одговори, попут акутног стреса који узрокује редистрибуцију моноцита из крви у ткива, често резултују пролазном моноцитопенијом. Малигне болести коштане сржи или лимфоидних органа, попут лимфома, леукемија и мијелопролиферативних болести, могу инхибирати продукцију моноцита. Код различитих животињских врста, специфични узроци укључују вирусне инфекције (парвовирус, дистемпер) и кортикостероидну терапију код паса, ФелВ, ФИВ и дуготрајни стрес код мачака, акутне

инфекције и микотоксине у храни код говеда, цирковирус тип 2 (ПЦВ-2) и салмонелозу код свиња, акутни стрес, трауму и сепсу код коња, вирусне болести попут Невцастлеа и Маркове болести, неадекватну исхрану и стрес код птица, те инфекције и неадекватне услове држања код рептила.

Микроелементи - цинк (Zn), бакар (Cu), јод (J), селен (Se), манган (Mn), кобалт (Co) и флуор (F) код животиња могу бити у измењеној концентрацији, а промене могу настати због различитих фактора који утичу на унос, апсорпцију, метаболизам и излучивање ових елемената. Недовољна количина микроелемената у исхрани често је узрокована сиромашним земљиштем или лошим квалитетом пашњака, док недостатак балансиране исхране, посебно код интензивног узгоја, додатно доприноси овом проблему. Проблеми с апсорпцијом микроелемената могу бити узроковани гастроинтестиналним поремећајима попут ентеритиса, хелминтијаза или инфекција, као и присуством антагониста у храни, попут фитата, оксалата или вишка других минерала (нпр. молибден и сумпор смањују апсорпцију бакра). Повећане потребе организма током раста, гравидитета, лактације или стреса такође могу довести до дефицита микроелемената, док висока производња млека или јаја захтева већи унос елемената попут цинка и јода. Губитак микроелемената кроз гастроинтестинални тракт (пролив), мокраћу (бубрежни проблеми) или крв (крварења) чест је узрок, а паразитске инфекције додатно повећавају губитке. Прекомерна суплементација може изазвати токсичност, при чему је бакар посебно токсичан за овце, док контаминација хране или воде тешким металима може изазвати дисбаланс елемената, на пример вишак флуора који узрокује флуорозу. Генетске предиспозиције код неких врста или раса, попут склоности оваца за акумулацију бакра, додатно повећавају ризик од поремећаја. Дисбаланс једног микроелемента често утиче на метаболизам других елемената, на пример вишак молибдена и сумпора инхибира апсорпцију бакра, док мањак кобалта омета синтезу витамина Б12 код преживара. Климатски услови, попут суша, смањују доступност микроелемената у исхрани, док индустријска контаминација земљишта и воде може изазвати промене у концентрацији елемената. Недостатак цинка може узроковати паракератозу (проблеми с кожом и длаком), док његов вишак омета апсорпцију бакра и гвожђа. Мањак бакра изазива анемију и депигментацију длаке, док вишак доводи до токсичности, посебно код оваца. Недостатак јода узрокује гушавост и репродуктивне поремећаје, док вишак може изазвати проблеме са штитастом жлездом. Недостатак селена изазива миопатије (бела мишићна болест) и репродуктивне поремећаје, док вишак изазива селенозу. Мањак мангана утиче на репродукцију и раст костију, а недостатак кобалта код преживара смањује синтезу витамина Б12, што води до анемије и лошег апетита. Вишак флуора изазива флуорозу, која узрокује оштећење зуба и костију.

Маркантне лабораторијске промене - Недостатак цинка може довести до смањења серумског нивоа цинка и повећања нивоа других минерала као што су бакар и гвожђе, што нарушава апсорпцију цинка. Код хематолошких налаза може доћи до анаемије, смањеног броја еритроцита, леукоцита и тромбоцита. Бакарни дефицит се одражава на смањен ниво серумског бакра и смањену активност ензима као што су церулоплазмин и супероксид дисмутаза, а хематолошке промене укључују микроцитну хипохромну анемију и неутропенију. Недостатак јода доводи до смањења тироидних хормона (Т3 и Т4) и повећања нивоа тиротропина (ТСХ), што доводи до хипотиреозе, док хематолошки налази немају значајне промене. Селенски дефицит смањује активност глутатион пероксидазе,

што нарушава антиоксидативну заштиту организма и може изазвати миопатију са пратећим променама у ензимима, као и хемолитичку анемију у тешким случајевима. Недостатак мангана смањује синтезу ензима као што је манган супероксид дисмутаза и може изазвати микроцитну хипохромну анемију и дефицит у стварању еритроцита. Кобалтов дефицит доводи до смањења витамина Б12, што нарушава продукцију еритроцита, а хематолошке промене укључују макроцитну и хиперхромну анемију, уз повећан број ретикулоцита. Недостатак флуора обично не изазива велике хематолошке промене, али доводи до смањене минерализације зуба и костију, што може изазвати честе преломе и осетљивост на каријес. Сви ови недостатци могу озбиљно угрозити здравље животиња, због чега је неопходно обезбедити равнотежу у њиховој исхрани.

Мокраћна киселина - Поремећаји нивоа мокраћне киселине код животиња могу настати услед различитих стања и поремећаја. Бубрежна инсуфицијенција је један од најчешћих узрока, посебно код птица и рептила, код којих мокраћна киселина представља главни продукт излучивања азота, а њен пораст у крви указује на смањену бубрежну функцију. Дехидрација, изазвана смањеним уносом воде или губитком течности, доводи до повећане концентрације мокраћне киселине услед смањеног излучивања путем бубрега. Прекомеран унос протеина у исхрани повећава производњу пурина, што може довести до повишених вредности мокраћне киселине, посебно код врста са ограниченим капацитетом за њено излучивање. Гихт, који се манифестује таложењем кристала мокраћне киселине у зглобовима или меким ткивима, чест је код птица и рептила и повезан је са хиперурикемијом. Хепатичне болести, као што су оштећења јетре, могу узроковати поремећај метаболизма пурина и смањити способност тела да регулише ниво мокраћне киселине. Употреба одређених лекова, попут диуретика или нефротоксичних супстанци, такође може утицати на елиминацију мокраћне киселине. Генетски метаболички поремећаји, попут дефицијенције ензима уриказе, доводе до њеног накупљања у крви. Инфекције и упални процеси, због повећаног катаболизма ткива, могу привремено повећати ниво мокраћне киселине, док ендокрини поремећаји, попут дијабетеса или хиперпаратиреоидизма, такође могу допринети хиперурикемији код неких врста. Прекомерна суплементација витамином Д може изазвати хиперкалцемију и оштетити бубреге, што додатно повећава концентрацију мокраћне киселине у организму. Мокраћна киселина је важан метаболит азотних супстанци, а њена концентрација у крви и начин елиминације разликују се међу различитим животињским врстама. Код сисара, мокраћна киселина се углавном метаболише у јетри и даље разграђује до урее која се излучује путем урина. Међутим, код птица и рептила мокраћна киселина представља главни крајњи продукт метаболизма азота и излучује се путем урата, што је прилагодба за очување воде у овим врстама. Код птица, посебно пернатих врста, висок ниво мокраћне киселине у крви може указивати на гихт, бубрежну инсуфицијенцију или дехидрацију. Код рептила, повећање концентрације мокраћне киселине често је повезано с неправилном исхраном, дехидрацијом или бубрежним болестима.

Н-ацетил-β-Д-глукозаминдаза (НАГ) је ензим који се налази у бубрежним тубулима, посебно у проксималним тубулима, и има кључну улогу у метаболизму гликозаминогликана. Овај ензим је специфичан за бубрежну функцију, јер се излучује у урину у значајним количинама када дође до оштећења бубрежних тубула, нарочито у случајевима тубуларне дисфункције или бубрежне болести. Повишени нивои НАГ-а у

урину представљају користан биомаркер за рану дијагностику бубрежних болести, јер ниво овог ензима расте у почетним фазама оштећења бубрега, пре него што дође до промене класичних показатеља бубрежне функције као што су креатинин и уреа. НАГ се сматра врло сензитивним показатељем бубрежне тубуларне дисфункције и може указивати на оштећење проксималних бубрежних тубула узроковано различитим факторима, укључујући токсине, упале, инфекције и хроничну бубрежну болест. Због тога се користи као дијагностички алат за рано откривање проблема у бубрежној функцији, чак и пре него што клинички симптоми постану очигледни. Дијагностичка вредност Н-ацетил-β-Д-глюкозаминдазе је значајна у неколико аспеката. Прво, повишени нивои НАГ-а могу указивати на ране фазе оштећења тубула, што омогућава ветеринарима да поставе дијагнозу пре него што дође до озбиљних промена у бубрежним функцијама које се обично прате преко нивоа креатинина и урее. Други значај НАГ-а лежи у његовој способности да прати прогресију бубрежних болести, јер се повишени нивои могу користити за процену ефикасности терапије и праћење напредовања болести. НАГ је такође специфичан за функцију бубрежних тубула, па се повишени нивои овог ензима често користе као индикатор оштећења бубрежних тубула. Ово је важно за дијагностиковање хроничних бубрежних болести код паса и мачака, које су често узроковане оштећењем тубула. Тестирање на НАГ, заједно с другим лабораторијским анализама, омогућава прецизнију дијагнозу и ефикасније праћење здравља бубрега код кућних љубимаца.

Натријум (Na) - Хипер- и хипонатремија код животиња јављају се као последица поремећаја у равнотежи натријума, који је кључан електролит за одржавање осмотског притиска, равнотеже течности, као и функције нервног и мишићног система. Хипернатремија може бити узрокована дехидратацијом, која настаје услед недовољног уноса воде или прекомерног губитка течности, као што су проливи, повраћање или појачано знојење, што доводи до концентрисања натријума у крви. Такође, губитак хипотоничних течности, што се може десити код стања попут дијабетес инсипидуса, полиурије или употребе диуретика, узрокује већу елиминацију воде него натријума, што доприноси хипернатремији. Прекомеран унос натријума, било кроз исхрану богату натријумом или случајну конзумацију слане воде, такође може повећати његов ниво у плазми. Осим тога, ослабљен рад бубрега може смањити способност организма да регулише излучивање натријума, што резултира његовим задржавањем и повећањем концентрације у крви. С друге стране, хипонатремија је често последица прекомерног разблаживања крви, које настаје услед прекомерног уноса воде или интравенске примене хипотоничних раствора, што смањује концентрацију натријума у плазми. Губитак натријума услед пролива, повраћања, крварења или полиурије због бубрежних поремећаја такође може довести до хипонатремије. Поред тога, синдром неадекватног лучења антидиуретског хормона (СИАДХ) изазива задржавање воде, што разређује натријум у плазми. Хроничне болести бубрега, које смањују способност бубрега да реапсорбују натријум, такође доприносе његовом губитку. Инфламаторни процеси, трауме, инфекције или оштећења ткива могу узроковати редистрибуцију натријума из интраваскуларног простора, што даље смањује његов ниво у крви. Ови поремећаји концентрације натријума могу озбиљно утицати на осмотску равнотежу, функцију ћелија и хомеостазу организма, па је разумевање њихових узрока од кључног значаја за дијагнозу и терапију код животиња.

Неке парадоксалне промене концентрације – Када постоји хиперпротеинемија и / или хиперлипидемија ове „суве“ компоненте плазме истискују натријумове јоне, што доводи до лажно ниске концентрације натријума у истом волумену узорка течности. Појава хиповолемије као узрока и хипонатремије и хипернатремије може деловати парадоксално. Губитак натријума и течности, као што се може јавити при предозирању диуретицима или повраћању, може иницијално довести до смањења волумена и релативне хипернатремије. Накнадно интрацелуларно кретање натријума, када је праћено поновним повећањем волумена, може узроковати хипонатремију.

Неутрофилија је стање повишеног броја неутрофила у периферној крви, које се најчешће јавља као одговор на инфекцију, упалу, стрес или одређене физиолошке промене. Ово стање има специфичне карактеристике код различитих животињских врста због разлика у њиховим хематолошким параметрима и имунолошким реакцијама. Код паса (Цанис лупус фамилиарис), неутрофилија се најчешће јавља услед бактеријских инфекција, попут пиометре или пнеумоније, стреса и кортикостероидног одговора, упала као што су панкреатитис или артритис, те тумора с инфламаторном компонентом. Пси имају релативно високе нормалне вредности неутрофила, па блага неутрофилија може остати непримећена. Реактивна неутрофилија код паса често је праћена појавом незрелих облика неутрофила, што је познато као помак улево. Код мачака (Фелис цатус), акутни стрес често узрокује изражену неутрофилију због редистрибуције неутрофила из маргинишућег базена, док инфекције попут апсцеса или перитонитиса, као и паразитске болести попут токсоплазмозе, могу изазвати благу неутрофилију. Стресом изазвана неутрофилија код мачака често је израженија него код паса, а дуготрајне упале могу довести до исцрпљивања резерви неутрофила. Код коња, неутрофилија се јавља код системских инфекција, попут бактеријског ентеритиса и септикемије, акутног стреса услед транспорта или физичке активности, те инфламаторних процеса као што су ламинитис или апсцеси. Код ове врсте, неутрофилија је често праћена леукоцитозом, али помак улево је мање изражен него код паса и мачака. Кроничне инфекције код коња обично узрокују благу или умерену неутрофилију, често уз повећан број моноцита. Код говеда, неутрофилија је најчешће повезана с акутним инфекцијама, као што су маститис, метритис или пнеумонија, хроничним инфламацијама попут апсцеса и трауматског ретикулитиса, те метаболичким болестима попут кетозе и ацидозе. Код говеда, неутрофилија је обично праћена значајном леукоцитозом, али у случају сепсе може доћи до парадоксалног смањења броја неутрофила због исцрпљивања резерви у коштаном сржи. Код птица и рептила, неутрофилији аналогно стање представља повећање хетерофила, који имају сличну функцију. Бактеријске инфекције, попут салмонелозе, паразитске болести као што је аспергилоза код птица, те физиолошки стрес узрокован транспортом или манипулацијом, могу изазвати неутрофилију. Код рептила је инфламаторни одговор спорији, па се неутрофилија често појављује умереног интензитета и са закашњењем. Код свиња, неутрофилија је повезана с респираторним инфекцијама попут оних изазваних *Actinobacillus pleuropneumoniae*, системским инфекцијама попут еризипела или салмонелозе, као и реакцијама на вакцинацију, које могу изазвати пролазну неутрофилију. Свиње показују значајне варијације у броју леукоцита, што отежава интерпретацију неутрофилије у клиничкој пракси. У свим наведеним врстама, неутрофилија представља важан маркер инфламаторних и инфективних процеса, чије разумевање доприноси прецизнијој дијагностици и третману.

Неутропенија је стање смањеног броја неутрофила у периферној крви, које значајно повећава ризик од инфекција због ослабљеног имунолошког одговора. Ово стање може настати услед смањене производње неутрофила, повећане потрошње, деструкције или редистрибуције. Узроци, клиничка слика и дијагностички приступ варирају међу различитим животињским врстама. Код паса, неутропенија се често јавља услед вирусних инфекција, као што је парвовирус паса (ЦПВ), који оштећује коштану срж и узрокује тешку неутропенију. Аутоимуне болести такође могу довести до имунолошки посредоване деструкције неутрофила. Токсични ефекти хемотерапије смањују производњу неутрофила у коштаном сржи, док сепса може изазвати интензивну потрошњу неутрофила због њихове миграције у ткива током инфекције. Код мачака, вирусне болести попут мачје леукемије (ФелВ) и вируса мачје имунодефицијенције (ФИВ) изазивају супресију коштане сржи, док парвовирусна инфекција (панлеукопенија) узрокује тешку неутропенију. Изложеност токсинима, попут микотоксина или хемикалија које оштећују коштану срж, додатно доприноси настанку овог стања. Апластична анемија, која може настати услед хроничне инфекције или токсичног оштећења, такође је значајан узрок. Код коња, ендотоксемија, која је честа код колика или тешких гастроинтестиналних болести, изазива редистрибуцију неутрофила и смањење њиховог броја у периферној крви. Септикемија код новорођене ждребади често резултира озбиљном неутропенијом због интензивног инфламаторног одговора, док вирусне инфекције попут херпесвируса коња (ЕХВ) могу супресирати хематопоезу. Код говеда, неутропенија је повезана с вирусним инфекцијама попут вирусне дијареје говеда (БВД), која оштећује коштану срж. Акутни маститис или метритис могу узроковати повећану потрошњу неутрофила током инфламаторног одговора, док хроничне инфекције, попут туберкулозе или инфекција узрокованих *Mycoplasma bovis*, доводе до исцрпљивања резерви неутрофила. Код птица, вирусне инфекције попут *Psittacine Beak and Feather Disease* (ПБФД) и аденовирусних инфекција смањују број хетерофила, који су еквивалент неутрофилима код птица. Микотоксикозе изазване изложености афлатоксинима смањују функцију коштане сржи, док малнутриција, посебно недостатак витамина А или протеина, негативно утиче на хематопоезу. Код рептила, неутропенија се често јавља услед хроничних бактеријских или гљивичних инфекција. Малнутриција, која укључује неодговарајући унос калцијума и витамина Д, утиче на функцију хематопоезе, док физиолошки спорији одговор на упалу резултира благом неутропенијом. Код свиња, вирус цирковирус тип 2 (ПЦВ-2) узрокује озбиљну супресију имунолошког система, укључујући неутропенију. Салмонелоза доводи до интензивне потрошње неутрофила током инфламаторног одговора, док микотоксикозе узроковане токсинима из контаминиране хране смањују функцију коштане сржи. Код свих животињских врста, узроци неутропеније могу укључивати лечење цитостатикима и имunosупресивима, изложеност хемикалијама попут бензена или пестицида, те генетске поремећаје, као што је цикличка неутропенија код паса расе сива колија. Хронична неутропенија без јасно утврђених етиолошких фактора захтева детаљан преглед костне сржи

Неестерификоване масне киселине (НЕФА) су кључне за енергетски баланс организма код свих животињских врста, јер омогућава коришћење масти као извора енергије у ситуацијама када су резерве глукозе смањене. НЕФА се првенствено ослобађају из масног ткива процесом липолизе, који је регулисан хормонским сигнаlima, укључујући катехолаmine, глутагон и глукокортикоиде, док инсулин има супротан ефекат и инхибира

липолизу. Након ослобађања из масног ткива, НЕФА се вежу за албумин и транспортују крвљу до ткива која их користе као извор енергије, попут мишића, јетре и срца. У овим ткивима НЕФА улазе у ћелије путем специфичних транспортера, где се даље разграђују путем процеса β -оксидације у митохондријама. Током β -оксидације, НЕФА се разграђују на ацетил-коензим А (ацетил-ЦоА), који затим улази у циклус лимунске киселине, омогућавајући производњу аденозин-трифосфата (АТП) кроз оксидативну фосфорилацију. У јетри, НЕФА имају централну улогу у синтези кетонских тела, која се користе као алтернативни извор енергије, посебно током продуженог поста, лактације или код болести праћених енергетским дефицитом. Поред тога, вишак НЕФА у јетри може бити преусмерен ка синтези триглицерида и њиховом складиштењу или ослобађању у облику липопротеина врло ниске густине (ВЛДЛ). Метаболизам НЕФА је строго регулисан како би се спречило њихово прекомерно накопљање у крви, што може довести до токсичних ефеката, укључујући оксидативни стрес, дисфункцију ћелијских мембрана и оштећење ткива. У патолошким стањима, попут дијабетеса, кетолактације или болести јетре, долази до поремећаја у метаболизму НЕФА, што може изазвати повишену концентрацију НЕФА у крви или допринети развоју метаболичких поремећаја, као што су масна јетра или кетоза. Разлике у метаболизму НЕФА међу врстама огледају се у специфичним адаптацијама које су резултат њихових физиолошких потреба. На пример, преживари, као што су краве, ослањају се на НЕФА и кетонска тела током периода лактације, док су моногастричне врсте, попут свиња и паса, више зависне од директног уноса угљених хидрата.

Повишене вредности НЕФА у крви код животиња резултат су повећане мобилизације масти из масног ткива или смањеног искоришћавања ових масних киселина у метаболичким процесима. Међу главним узроцима налазе се метаболички поремећаји, ендокрини дисбаланси, физиолошки фактори и стрес. Енергетски дефицит, који се јавља код животиња у негативном енергетском балансу, као што су краве у раној лактацији или коњи под интензивним физичким оптерећењем, повећава липолизу како би се обезбедила енергија, што доводи до повишених нивоа НЕФА у крви. Слично томе, кетолактичка стања, која су честа код преживара попут млечних крава, повећавају мобилизацију масти и узрокују повишене вредности НЕФА. Ендокрини дисбаланси, попут повишене активности хормона осетљиве липазе (ХСЛ) под утицајем глукокортикоида, катехоламина или глукагона, повећавају разградњу триглицерида у масном ткиву и ослобађање НЕФА. Дијабетес мелитус, карактерисан инсулинском резистенцијом или недостатком инсулина, додатно смањује искоришћавање НЕФА, док повећава њихову мобилизацију, а хиперадренално-кортицизам узрокује хронично повишен кортизол који стимулише липолизу. Физиолошки фактори, попут трудноће и лактације, посебно код високопродуктивних крава и других сисара, доводе до повећане мобилизације масти услед високих енергетских захтева. Продужени пост такође узрокује ослањање организма на резерве масти, што повећава концентрацију НЕФА у крви. Стрес, било физички или емоционални, као што је транспорт, болест или болна стања, активира симпатички нервни систем и ослобађање катехоламина, што додатно стимулише липолизу. Болести јетре и метаболички поремећаји, као што је смањена способност јетре да оксидује или естерификује масне киселине, често доводе до повишених нивоа НЕФА у крви, што је посебно изражено код преживара с масном јетром или токсичним условима. Повишени нивои НЕФА указују на повећано коришћење масти као енергетског извора и представљају значајан биомаркер метаболичког стреса код различитих врста животиња.

НТ-проБНП (*N-terminal prohormone brain natriuretic peptide*) је пептид који се лучи из срца као одговор на повећане притиске у срцу и крвним судовима. НТ-проБНП је прохормон који се разлаже у биолошки активни БНП, који има важну улогу у регулацији крвног притиска, запремине течности у организму, као и у равнотежи електролита. Повећани нивои НТ-проБНП у крви често указују на присутност срчане дисфункције, посебно у случајевима као што су срчани удар, затајење срца и преоптерећење срца. Дијагностички значај НТ-проБНП код животиња:

Дијагноза срчаних болести: НТ-проБНП се користи као биомаркер за детекцију и праћење различитих срчаних болести код животиња, нарочито код паса и мачака. Повећани нивои НТ-проБНП могу указивати на почетак срчаних проблема, као што су конгестивно затајење срца или дилатација срца. У комбинацији с другим дијагностичким тестовима (као што су ехокардиографија и рентгенске слике), НТ-проБНП може помоћи у прецизнијој дијагнози.

Праћење терапије: Праћење нивоа НТ-проБНП може бити корисно за процену ефикасности терапије у животиња са срчаним обољењима. Смањење нивоа НТ-проБНП након започете терапије указује на побољшање срчане функције, док повећање може сигнализирати потребу за прилагођавањем терапије или додатним медицинским интервенцијама.

Диференцијација између срчаних и респираторних проблема: НТ-проБНП може помоћи у диференцијацији између срчаних и респираторних проблема код животиња које показују симптоме отежаног дисања, кашља или умора. На пример, повишени нивои НТ-проБНП указују на срчану етиологију проблема, док нормални нивои могу сугерисати респираторну или неку другу врсту болести.

Детекција субклиничких стања: НТ-проБНП је користан за детекцију субклиничких фаза срчаних болести код животиња, односно оних које не показују изражене симптоме, али већ имају почетне промене у срчаној функцији. Ово омогућава рану интервенцију и потенцијално побољшање прогнозе.

Лабораторијски налази: Нивои НТ-проБНП у крви обично су повишени у животиња са срчаним проблемима. У здравих животиња, концентрације НТ-проБНП су обично ниске. Међутим, повећање нивоа овог биомаркера може указивати на акутну или хроничну срчану болест, као и на друге срчане сметње попут хипертензије или застоја у срчаној пумпи.

Употреба НТ-проБНП теста у ветеринарској медицини омогућава бољу дијагностику срчаних болести код кућних љубимаца, што доприноси правовременом лечењу и превенцији озбиљнијих компликација.

Орнитин карбамоил трансфераза (ОКТ) је митохондријски ензим који учествује у циклусу урее, кључном процесу за детоксикацију амонијака у јетри. Његова активност у серуму је специфичан показатељ оштећења јетрених хепатоцита, нарочито у случајевима некрозе или озбиљних повреда јетреног паренхима. ОКТ је од клиничког значаја код различитих животињских врста и користи се за дијагностику и праћење болести јетре.

Код паса и мачака, ОКТ није често у рутинској употреби због присуства других јетрених ензима, попут АЛТ и АСТ, који се чешће одређују. Међутим, ОКТ може бити од користи у дијагнози акутних оштећења јетре, нарочито у случајевима тровања или озбиљних инфекција које изазивају масовно уништавање хепатоцита.

Код говеда, ОКТ има значајну дијагностичку вредност, јер је специфичан за оштећење јетре. Повишене вредности ОКТ могу указивати на болести као што су кетоза, масна јетра, тровање микотоксинима, или паразитске инфекције попут фасциолозе. Због високог оптерећења јетре код метаболичких болести, говеда често показују повишене нивое овог ензима.

Код коња, ОКТ се користи за процену хепатоцелуларног оштећења, посебно код обољења узрокованих токсинима, инфекцијама или исхемијом јетре. Повећане вредности ОКТ код коња могу указивати на акутно оштећење јетре, док се хронична стања обично прате уз помоћ других параметара попут ГГТ и билирубина.

Код свиња, ОКТ је користан за детекцију субклиничких и клиничких оштећења јетре изазваних тровањем (нпр. микотоксинима) или метаболичким поремећајима. Код индустријских свиња, овај ензим може указивати на проблеме у исхрани или токсичност лекова.

Код оваца и коза, ОКТ је такође маркер оштећења јетре, нарочито код тровања биљкама које садрже пирролизидинске алкалоиде. Повишене вредности су често повезане са фасциолозом и другим паразитским инфекцијама које оштећују јетру.

Код птица, ОКТ има ограничену примену, али може бити користан за процену оштећења јетре изазваних тровањем, метаболичким поремећајима или инфективним болестима.

Код егзотичних животиња и рептила, ОКТ је мање заступљен у рутинској дијагностици, али може пружити значајне информације о стању јетре у специфичним случајевима, попут тровања или лоших услова држања.

Орнитин карбамоил трансфераза је специфичан маркер за оштећење хепатоцита, нарочито код акутних лезија јетре. Његова дијагностичка вредност је најизраженија код говеда, коња и преживара, где се користи за детекцију метаболичких, токсичних и паразитских болести јетре. У комбинацији са другим ензимима и параметрима, ОКТ омогућава детаљну процену функционалног стања јетре код различитих животињских врста.

Осмоларност серума - Промене осмоларности крвног серума код животиња могу настати услед различитих патолошких стања или физиолошких поремећаја који утичу на равнотежу воде и електролита у организму. Осмоларност серума зависи од концентрације осмотски активних супстанци, попут натријума, глукозе и урее. Повећана осмоларност, позната као хиперосмоларност, може настати услед дехидрације која се јавља због губитка воде без пропорционалног губитка електролита, што је карактеристично за стања попут дијареје, повраћања или прекомерног знојења. Такође, хипергликемија, често повезана са дијабетес мелитусом, као и уремија услед накупљања урее у крви због оштећења бубрега, значајно доприносе хиперосмоларности. Хипернатремија, односно повишен ниво натријума у крви, јавља се услед неадекватног уноса воде или прекомерног губитка слободне воде. Смањена осмоларност, или хипоосмоларност, може настати услед прекомерног уноса воде, што је често код полидипсије или интравенске примене хипотоничних течности. Хипонатремија, смањен ниво натријума у крви, јавља се услед губитка натријума реналног, гастроинтестиналног или кожног порекла или због прекомерног разређивања крви. Бубрежна инсуфицијенција, која спречава бубреге да правилно концентришу урин, такође доводи до задржавања воде и смањења осмоларности серума, док синдром неадекватног лучења антидиуретског хормона (СИАДХ) узрокује

задржавање воде и додатно смањује осмоларност. Мешовити поремећаји осмоларности јављају се код дијабетичке кетоацидозе, где повећана концентрација глукозе и кетона доприноси повећању осмоларности, док истовремена дехидрација може погоршати стање. Такође, полиурија код дијабетеса инсипидуса доводи до губитка велике количине хипотоничне течности, смањујући концентрацију натријума, али изазивајући дехидрацију и промене укупне осмоларности. Разумевање узрока ових промена кључно је за правилну дијагнозу и терапију, јер осмоларност има значајан утицај на функцију ћелија и ткива.

Параоксоназа (ПОН) је ензими који се налази у плазми и има значајну улогу у детоксификацији различитих токсина, као и у заштити организма од оксидативног стреса. Параоксоназа је везана за липопротеине високе густине (ХДЛ) и има способност разградње естера параоксида, што доприноси смањењу оксидативног оштећења и упалних процеса. Овај ензим има три изоформе: ПОН1, ПОН2 и ПОН3, које се разликују у функцији, али све играју улогу у метаболизму липида и заштити од слободних радикала. Дијагностички значај параоксоназе код животиња лежи у њеној способности да одражава функцију јетре, ниво оксидативног стреса и липопротеинску равнотежу. Повећани ниво ПОН1 у крви може указивати на запаљенске процесе, док смањење активности овог ензима може бити повезано с различитим болестима, укључујући болести јетре, кардиоваскуларне болести и метаболичке поремећаје. У ветеринарској медицини, параоксоназа се користи као биомаркер за процену кардиоваскуларних болести, јер низак ниво ПОН1 може указивати на повећан ризик од атеросклерозе и других кардиоваскуларних проблема код животиња. Такође, ПОН1 активност може бити умањена у стањима која укључују оксидативни стрес, попут дијабетеса, упалних болести или болести јетре, чиме постаје корисни дијагностички алат за праћење напредовања тих стања. Поред тога, код животиња које су изложене токсичним материјама, као што су органофосфати, смањење активности параоксоназе може указивати на токсичне промене које захтевају хитну медицинску интервенцију. Мерење активности ПОН1 и других изоформи параоксоназе може пружити вредне информације о здрављу животиње, осетљивости на оксидативне процесе и потенцијалним метаболичким или токсичним поремећајима.

Полицитемија означава повећан број еритроцита, хемоглобина и хематокрита у периферној крви, а може бити апсолутна или релативна. Релативна полицитемија, која је чешћа, настаје услед дехидратације, при чему се смањује волумен плазме, што узрокује привидно повећање еритроцита, или услед спленичне контракције код стреса, посебно код коња и мачака. Апсолутна полицитемија се дели на примарну, познату као полицитемија вера, и секундарну, која настаје услед повећане продукције еритропоетина (ЕПО) као одговора на хипоксију или због неоплазија. Примарна полицитемија вера је ретка и резултат је клоналне пролиферације хематопоетских ћелија у коштаној сржи, без стимулације еритропоетином, а јавља се код паса, мачака и говеда. Секундарна полицитемија повезана је са хроничном хипоксијом због респираторних или кардиоваскуларних болести, попут плућне фиброзе код паса, стенозе плућне артерије код мачака или високог надморског подручја код говеда. Такође, може бити узрокована туморским процесима који луче еритропоетин, попут реналних или утериних тумора. Лабораторијски налази код полицитемије укључују повећан хематокрит, хемоглобин и број еритроцита. Код релативне полицитемије налази често показују хемоконцентрацију

са повећаним укупним протеинима, док код апсолутне полицитемије укупни протеини остају нормални. Диференцијална дијагноза се поставља на основу историје, клиничких симптома и додатних тестова, као што су мерење артеријског гасног статуса и нивоа еритропоетина. Терапија зависи од узрока; релативна полицитемија се решава корекцијом дехидратације, док се апсолутна може третирати венепункцијама, хидроксиуреом или лечењем основне болести. Специфичности варирају међу врстама: код паса и мачака примарна полицитемија узрокује симптоме попут летаргије и црвенила слузокоже, док код говеда секундарна полицитемија због хипоксије може изазвати спор раст и смањену продуктивност.

Паратхормон (ПТХ) је кључни хормон у регулацији концентрације калцијума и фосфора у организму, а производи га паратироидне жлезде. Његова основна функција је повећање нивоа калцијума у крви стимулisaњем ресорпције кости, повећањем реасорпције калцијума у бубрезима и стимулацијом синтезе активног витамина Д (калцитриола), који повећава апсорпцију калцијума из црева. Дијагностички значај ПТХ огледа се у откривању поремећаја калцијум-фосфор метаболизма и болести паратироидних жлезда, попут хиперпаратиреоидизма и хипопаратиреоидизма.

Узроци повећаних вредности ПТХ (хиперпаратиреоидизам): а) примарни хиперпаратиреоидизам: Аденоми, хиперплазије или карциноми паратироидних жлезда који доводе до прекомерне секреције ПТХ; б) секундарни хиперпаратиреоидизам: Хронични бубрежни поремећаји или нутритивни дисбаланси (дијета с ниским садржајем калцијума или високим садржајем фосфора) који узрокују компензаторно повећање ПТХ; ц) псеудохиперпаратиреоидизам: Паранеопластични синдроми повезани с неким туморима који луче ПТХ сличне пептиде.

Узроци смањених вредности ПТХ (хипопаратиреоидизам): а) Примарни хипопаратиреоидизам: Услед аутоимуних болести, траума или хируршког уклањања паратироидних жлезда; б) Секундарни хипопаратиреоидизам: Повезан с хроничном хиперкалцемијом која инхибира секрецију ПТХ.

Лабораторијски налази код хиперпаратиреоидизма:

Хиперкалцемија: Карактеристичан налаз код примарног хиперпаратиреоидизма.

Хипофосфатемија: Због повећаног излучивања фосфата путем бубрега.

Повишен ПТХ: Примарни хиперпаратиреоидизам показује несразмерно висок ПТХ у односу на ниво калцијума.

Секундарни хиперпаратиреоидизам: ПТХ је повишен, али уз нормалне или снижене нивое калцијума, док је фосфор често повишен код реналне инсуфицијенције.

Лабораторијски налази код хипопаратиреоидизма:

Хипокалцемија: Смањена секреција ПТХ доводи до пада нивоа калцијума у крви.

Хиперфосфатемија: Због смањеног излучивања фосфата бубрезима.

Смањен или недетектабилан ПТХ: Код примарног хипопаратиреоидизма.

ПТХ и јонизовани калцијум: Јонизована хиперкалцемија би требало да доведе до ниских или недетектабилних нивоа ПТХ. Бубрежна болест и секундарни хиперпаратиреоидизам најчешће доводе до повећања јонизованог калцијума и нормалне до снижене вредности ПТХ. Ако су нивои ПТХ у средњем и високом нормалном опсегу

(или вишем) уз истовремено повишен јонизовани калцијум то указује на примарни хиперпаратиреоидизам. Код нормалне функције паратиреоидних жлезда, јонизована хиперкалцемија би требало да изазове негативну повратну спрегу и веома ниске нивое ПТХ.

ПТХ и његови нивои анализирају се заједно са калцијумом (и јонизованим калцијумом), фосфором, магнезијумом и витамином Д како би се утврдио узрок поремећаја. Праћење ових параметара је кључно за дијагностику и управљање болестима повезаних с метаболизмом костију и минерала код животиња.

Полни хормони, укључујући естрогене, прогестерон, тестостерон, лутеинизирајући хормон (ЛХ), фоликулостимулирајући хормон (ФСХ) и инхибин, имају кључну улогу у регулацији репродуктивних функција код животиња, а њихова анализа омогућава дијагностику репродуктивних поремећаја, праћење плодности и процену ендокринолошког статуса. Естрогени, који се производе у јајницима, тестисима и плаценти, могу бити повећани услед тумора гонада или хиперестрогенизма, што може изазвати хематолошке промене попут панцитопеније, док су снижени нивои често повезани с анеструсом или оваријском дисфункцијом. Прогестерон, који се синтетише у жутом телу јајника и плаценти, користи се за праћење еструсног циклуса, потврду овулације и дијагностику трудноће, при чему снижени нивои указују на лутеалну инсуфицијенцију или прекид трудноће, а повишени на присуство активног жутог тела или трудноћу. Тестостерон, који производе тестиси (Лајдигове ћелије) и надбубрежне жлезде, може бити повишен услед тумора тестиса, хиперадренортицизма или интерсексуалних поремећаја, док детекција тестостерона код кастрираних животиња може указивати на заостало тестикуларно ткиво. Лутеинизирајући хормон (ЛХ), који се синтетише у хипофизи, стимулише овулацију код женки и продукцију тестостерона код мужјака, а користи се за процену оваријалних функција, дијагностику стерилности и праћење еструсног циклуса. Фоликулостимулирајући хормон (ФСХ) учествује у сазревању фоликула код женки и регулацији сперматогенезе код мужјака, а повишени нивои ФСХ указују на оваријску инсуфицијенцију, док снижени сугеришу поремећаје хипофизе. Инхибин, који производе Сертолијеве ћелије у тестисима и гранулоза ћелије у јајницима, може бити повишен као маркер Сертолијевих тумора код мужјака или оваријалних тумора код женки. Анализе полних хормона користе се за дијагностику репродуктивних поремећаја, попут анеструса, цикличних неправилности или стерилности, потврду овулације и одређивање оптималног времена за осемењавање, идентификацију тумора гонада или хиперплазије, као и праћење кастрације и потврду елиминације гонадног ткива. Правилна интерпретација нивоа полних хормона захтева узимање у обзир физиолошког статуса животиње, укључујући пол, старост, репродуктивни циклус и присуство болести.

Прогестерон игра кључну улогу у одређивању оптималног времена за осемењавање код куја, јер се његова концентрација у серуму директно повезује с фазама еструсног циклуса. Током проеструса, концентрација прогестерона је ниска, обично мања од 1 ng/mL. Како се куја приближава овулацији, ниво прогестерона почиње да расте, прелазећи праг од 2-2,5 ng/mL, што означава почетак преовулаторног пораста лутеинизирајућег хормона (ЛХ). Овулација се дешава отприлике 48 сати након ЛХ пика, при чему се концентрација прогестерона креће између 4 и 10 ng/mL. Међутим, овулиране јајне ћелије морају проћи додатних 48 сати матурације пре него што постану способне за оплодњу. У

том периоду, концентрација прогестерона обично достиже 15-20 ng/mL. Оптимално време за осемењавање куја је 2-4 дана након овулације, када су јајне ћелије зреле и спремне за оплодњу, а ниво прогестерона у серуму обично се налази између 15 и 25 ng/mL. Редовно мерење концентрације прогестерона кључно је за прецизно одређивање овог периода, нарочито код вештачког осемењавања, где је тачност у одређивању времена кључна за постизање успешне оплодње.

Хормонална анализа представља поуздан алат за рану дијагностику гравидитета и праћење еструсног циклуса код крава. Главни хормони који се користе у ове сврхе су прогестерон, естрон сулфат и гликопротеини повезани с трофобластима (*Pregnancy-associated glycoproteins, PAGs*).

Прогестерон се користи за процену активности жутог тела, што је кључно за дијагностику еструса и потврду гравидитета. Током лутеалне фазе, концентрација прогестерона је висока, док је у еструсу значајно ниска, што омогућава одређивање правог тренутка за осемењавање. За рану дијагностику гравидитета, прогестерон се мери између 18. и 24. дана након осемењавања. Низак ниво прогестерона у овом периоду указује на одсуство гравидитета, док висок ниво сугерише могуће присуство плода.

Естрон сулфат је метаболит естрогена који производи постељица и фетус. Његово присуство у крви или млеку крава након 60 дана гравидитета поуздан је маркер за потврду трудноће.

Гликопротеини повезани с трофобластима (PAGs) су специфични за трудноћу и производе се од трофобластних ћелија плаценте. Њихова детекција у крви омогућава веома прецизну дијагностику гравидитета већ од 28. дана након осемењавања.

Протеини акузне фазе - Протеини акутне фазе (ПАП) су група протеина чија се концентрација у плазми мења као одговор на инфламацију, инфекцију, трауму, или неоплазију. Ови протеини имају кључну улогу у имунолошком одговору и репарацији ткива. Код различитих животињских врста, најважнији ПАП-и и њихова дијагностичка вредност варирају.

Код паса, главни позитивни ПАП-и укључују Ц-реактивни протеин (ЦРП) и серумски амилоид А (САА), док је хаптоглобин благи маркер. ЦРП је најосетљивији индикатор инфламације код паса и нагло расте у случајевима бактеријских инфекција, неоплазија или ткивне деструкције. Код мачака, САА и алфа-1-кисели гликопротеин (АГП) су најважнији ПАП-и, док је ЦРП слабије изражен него код паса. САА је поуздан маркер код инфекција, инфламаторних болести, и траума код мачака.

Код коња, САА је главни позитивни ПАП и значајно се повећава у случајевима инфекција, колитиса, ендотоксемије и инфламаторних болести. Фибриноген је такође користан као секундарни маркер инфламације код коња. Код говеда, најважнији ПАП-и су хаптоглобин, САА, и фибриноген. Хаптоглобин значајно расте код маститиса, метритиса, и пнеумоније, док фибриноген пружа додатне информације о стању инфламације. Код свиња, главни ПАП-и су Ц-реактивни протеин, САА, и хаптоглобин. Они су кључни у дијагностици системских инфекција и стања стреса.

Код птица, САА и хаптоглобин су присутни, али њихова дијагностичка вредност није у потпуности истражена. Код рептила, истраживања ПАП-а су ограничена, али се САА и фибриноген могу користити за процену инфламације.

Негативни протеини акутне фазе, као што су албумин и трансферин, смањују се током инфламаторног одговора и могу послужити као додатни дијагностички маркери.

Мерење ПАП-а је корисно у раној детекцији инфламаторних стања, праћењу терапије и прогнози код различитих болести и патолошких стања код свих животињских врста.

Протеини акутне фазе (ПАП) су биомаркери инфламаторних стања, а њихове повећане вредности указују на присуство инфекције, трауме, неоплазије или других упалних процеса. Код паса, најважнији позитивни ПАП је Ц-реактивни протеин (ЦРП), који се значајно повећава код бактеријских инфекција, неоплазија и аутоимунних болести. Серумски амилоид А (САА) је додатни маркер који расте у акутним инфламацијама, док се хаптоглобин умереније повећава. Код мачака, САА и алфа-1-кисели гликопротеин (АГП) су главни ПАП-и. САА брзо расте код бактеријских инфекција, траума и неоплазија, док АГП прати хроничну инфламацију, укључујући ФИВ и ФелВ.

Код коња, главни ПАП је САА, чије се вредности нагло повећавају код бактеријских инфекција, колитиса, ендотоксемије и апсцеса. Фибриноген, као секундарни ПАП, постепено расте код инфламација и може бити користан за праћење хроничних стања. Код говеда, значајно се повећавају хаптоглобин, САА, и фибриноген. Хаптоглобин је нарочито осетљив маркер код маститиса, метритиса и пнеумоније, док фибриноген указује на дуготрајне инфламаторне процесе. Код свиња, ЦРП, САА, и хаптоглобин су главни ПАП-и. ЦРП и САА се повећавају у случајевима системских инфекција и стреса, док хаптоглобин прати хроничне упале.

Код птица, повећане вредности САА и хаптоглобина указују на присуство инфламаторних стања, али њихова дијагностичка улога није у потпуности истражена. Код рептила, подаци су ограничени, али се повећање САА и фибриногена повезује с инфекцијама и инфламацијама.

Високе вредности позитивних ПАП-а пружају клинички значајне информације за рану детекцију инфламаторних болести, процену тежине стања и праћење ефеката терапије код свих наведених врста.

Протеини укупни у крви, који обухватају албумине и глобулине, одражавају стање протеина у циркулацији, а њихове нормалне вредности варирају међу различитим врстама животиња. Код паса се нормалне вредности укупних протеина крећу од 55 до 75 g/L, код мачака од 60 до 80 g/L, код коња од 57 до 79 g/L, код говеда од 67 до 82 g/L, код оваца и коза од 60 до 79 g/L, код птица од 30 до 60 g/L, а код рептила од 30 до 70 g/L, у зависности од врсте и физиолошког стања. Хипопротеинемија, односно смањење укупних протеина испод референтних вредности, може настати услед губитка протеина путем гастроинтестиналног тракта, бубрега (нефротски синдром или гломерулонефритис) или коже (тешке опекотине). Такође, смањена синтеза протеина може бити последица хроничне инсуфицијенције јетре или неухрањености, док разблажење крви услед прекомерне хидрације може изазвати релативну хипопротеинемију. Ово стање често изазива едеме, асцитес и слабост због смањене онкотске снаге плазме. Са друге стране, хиперпротеинемија, која означава повећање укупних протеина изнад нормалних вредности, може бити узрокована повећањем глобулина услед хроничних инфламаторних болести, имунолошких поремећаја, неопластичних стања попут мултиплог мијелома или лимфома, дехидрације која изазива релативно повећање протеина, или хиперфибриногемиие карактеристичне за инфламаторна стања. Код паса и мачака, хипопротеинемија је често повезана са гастроинтестиналним и реналним болестима, док хиперпротеинемија углавном указује на хроничне инфекције или имунолошке поремећаје. Код коња, хипоалбуминемија и хипопротеинемија су повезане са ентеропатијама са

губитком протеина, док је хиперфибриногемија значајан маркер инфламације. Код говеда су промене у укупним протеинима често последица паразитских инфекција или инфламаторних стања, док се код птица хипопротеинемија јавља услед лоше исхране или хроничних болести, а хиперпротеинемија је углавном повезана с инфекцијама. Код рептила, хипопротеинемија може настати услед лоше исхране или паразитских инфекција, док је хиперпротеинемија повезана с хроничним инфламаторним стањима. Правилна интерпретација концентрација укупних протеина захтева анализу односа албумина и глобулина, као и разматрање узрока специфичних за одређену врсту животиња и здравствено стање.

Ретикулоцити су незрели еритроцити који циркулишу у крви пре него што сазру у зреле црвене крвне ћелије, а њихов број и присуство играју кључну улогу у процени регенеративне способности коштане сржи, посебно код анемија. Број и морфолошке карактеристике ретикулоцита разликују се међу животињским врстама. Код паса, ретикулоцити су значајан параметар за процену регенеративне анемије, јер пси имају висок капацитет за регенерацију еритроцита. Код ове врсте постоје две врсте ретикулоцита: агрегатни ретикулоцити, који садрже веће грануле РНК, и пунктатни ретикулоцити, са ситнијим, тачкасто распоређеним гранула РНК. Код мачака такође постоје две врсте ретикулоцита – агрегатни и пунктатни. Агрегатни ретикулоцити су незрелији и сазревају за 12–24 сата, док пунктатни могу остати у циркулацији до 10 дана. За процену регенеративног одговора код мачака, број агрегатних ретикулоцита је значајнији јер одражава тренутну активност коштане сржи. Код коња ретикулоцити се ретко налазе у периферној крви чак и код регенеративне анемије, па се одговор коштане сржи код ове врсте процењује индиректно, анализом коштане сржи или хематолошким параметрима, попут повећања запремине еритроцита (MCV). Говеда у нормалним условима ретко имају ретикулоците у крви, али њихово присуство у случајевима анемије указује на регенеративни одговор коштане сржи. Слично томе, овце и козе обично немају ретикулоците у циркулацији, а њихово присуство указује на регенеративну анемију, иако је код коза тај одговор обично слабији него код других врста. Код птица ретикулоцити се често налазе у крви и у нормалним околностима, јер птице имају убрзан процес обнове еритроцита, док се њихов број додатно повећава у регенеративним стањима. Анализа ретикулоцита је кључна за разликовање регенеративних и нерегенеративних анемија, при чему диференцијалне карактеристике ретикулоцита код различитих врста захтевају познавање специфичних референтних вредности и метода за сваку врсту. Најчешће коришћене технике за идентификацију и бројање ретикулоцита укључују аутоматске анализаторе и ручне методе бојења, попут бојења метиленским плавим. Повећање апсолутне концентрације (а не процента) ретикулоцита је златни стандард за одређивање да ли је анемија регенеративна или нерегенеративна.

Симетрични диметиларгинин (SDMA) је биомаркер који се користи у ветеринарској медицини за рано откривање поремећаја бубрежне функције код паса и мачака, јер се као нуспроизвод нормалног метаболизма протеина, ослобађа у крвоток током разградње ћелијских протеина и готово искључиво излучује путем бубрега, што га чини специфичним показатељем функције бубрега, при чему се његова концентрација у крви повећава када бубрези изгубе способност филтрације, а његова важност лежи у томе што омогућава раније откривање болести јер расте већ при опадању бубрежне функције за

25–40%, док креатинин расте тек након губитка 75% функције, затим што мање зависи од мишићне масе, што је корисно код мршавих или старијих животиња, као и у прецизнијем праћењу прогресије болести, па се примењује у раној дијагнози хроничне бубрежне болести (ХББ), процени функције бубрега код старијих љубимаца који су у већем ризику, као и у мониторингу већ постојећих обољења, где резултати показују да су нормалне вредности SDMA испод 14 µg/dL, али повишене вредности указују на могућу дисфункцију бубрега и захтевају даљу дијагностику, као што су анализа урина, ултразвук бубрега и тестови електролита, чиме SDMA тест значајно унапређује способност откривања и праћења бубрежних болести, омогућавајући ветеринарима правовремено реаговање и побољшање квалитета живота пацијената, док редовни прегледи и праћење бубрежне функције, укључујући SDMA тест, играју кључну улогу у здрављу љубимаца, због чега се препоручује консултација са ветеринаром о његовој примени.

Сорбитол дехидрогеназа (СДХ) је ензим присутан у јетри, који учествује у метаболизму фруктозе претварањем сорбитола у фруктозу. Активност овог ензима се користи као специфичан маркер за процену оштећења јетре, нарочито код животињских врста код којих други ензими, попут аланин аминотрансферазе (АЛТ), нису довољно специфични. СДХ се најчешће користи за процену хепатоцелуларног оштећења, јер се брзо ослобађа из хепатоцита након оштећења, али има кратак полуживот, што га чини погодним за откривање акутних промена.

Код паса и мачака, СДХ није толико широко коришћен, јер се ензими попут АЛТ-а и алкалне фосфатазе (АЛП) чешће користе за процену функције јетре. Међутим, у случајевима где је потребна додатна специфичност, нарочито код акутних хепатопатија, СДХ може бити користан маркер.

Код говеда, СДХ има кључну улогу у дијагностици болести јетре, јер ензими попут АЛТ-а нису специфични за јетру код преживара. Повишене вредности СДХ код говеда се јављају код акутних хепатопатија изазваних токсинима, инфекцијама (нпр. лептоспироза), или метаболичким поремећајима попут кетозе.

Код коња, СДХ је један од најважнијих ензима за процену оштећења јетре, јер се ензими попут АЛТ-а не користе због њихове ниске активности у јетри коња. Повишене вредности СДХ код коња указују на хепатоцелуларно оштећење, које може настати услед тровања (нпр. алкалоидима), вирусних или бактеријских инфекција, или поремећаја жучних путева.

Код свиња, СДХ се користи ређе, али може бити користан у испитивању оштећења јетре узрокованог токсинима или инфекцијама.

Код птица, СДХ је значајан маркер за процену оштећења јетре, с обзиром на то да птице имају другачију дистрибуцију и функцију јетрених ензима у поређењу са сисарима.

Код рептила, употреба СДХ није широко распрострањена, али може бити укључена у специјализоване анализе функције јетре код ових врста.

Сорбитол дехидрогеназа је вредан дијагностички маркер за процену оштећења јетре код многих животињских врста, нарочито преживара и коња. Његова кратка полуживот омогућава откривање акутних оштећења, док је његова специфичност за јетру корисна тамо где други ензими не пружају довољно информација.

Тромбоцитоза означава повећан број тромбоцита у периферној крви изнад референтних вредности и може бити примарна (есенцијална) или секундарна (реактивна). Код паса, примарна тромбоцитоза је ретка и обично повезана са мијелопролиферативним обољењима попут есенцијалне тромбоцитемije, док је секундарна чешћа и узрокована стањима као што су хроничне инфекције, пиометра, панкреатитис, тумори (посебно карциноми или саркоми), регенеративне реакције након губитка крви, или примена лекова попут кортикостероида. Дефицит гвожђа код месоједа може довести до тромбоцитозе. Код мачака, примарна тромбоцитоза је изузетно ретка, док секундарна може настати услед упалних стања као што су перитонитис и панкреатитис, хроничних инфекција, неоплазија попут аденокарцинома, или реакције на лекове, посебно кортикостероиде. Код коња је примарна тромбоцитоза врло ретка, док секундарна може бити изазвана упалама, као што су ендометритис, апсцеси или хроничне инфекције, неоплазијама са инфламаторном компонентом, или стресом који повремено узрокује повећање броја тромбоцита. Код говеда је примарна тромбоцитоза ретка и повезана са мијелопролиферативним поремећајима, док секундарна често настаје услед хроничних бактеријских инфекција као што су маститис и метритис, паразитских инфекција, на пример фасциолозе и тајлериозе, или микотоксикоза које изазивају инфламаторне промене у хематопоези. Код свиња је примарна тромбоцитоза такође ретка, док секундарна може настати због хроничних инфекција попут салмонелозе и лептоспирозе, паразитских инфекција као што су аскаридоза, или као последица стреса и траума узрокованих крвним губицима или регенеративним процесима. Код птица је примарна тромбоцитоза ретка и повезана са хематопоеским обољењима, док секундарна може настати због упала, као што су респираторне инфекције или перитонитис, дефицита витамина и минерала који утичу на број тромбоцита, или као физиолошки одговор на хронични стрес. Код рептила је примарна тромбоцитоза изузетно ретка, док секундарна може бити повезана са бактеријским и гљивичним инфекцијама које изазивају инфламаторни одговор, повредама и регенерацијом, или хроничним стресом који узрокује благу тромбоцитозу. Тромбоцитоза се најчешће открива током рутинских хематолошких прегледа, а диференцијална дијагноза укључује разликовање примарне од секундарне тромбоцитозе анализом клиничке слике, историје болести и лабораторијских налаза. Иако тромбоцитоза обично нема озбиљне последице, може бити важан маркер основног инфламаторног, неопластичног или стресног стања, па се лечење усмерава на основну болест или стање које ју је изазвало.

Тромбоцитопенија означава смањен број тромбоцита у периферној крви испод референтних вредности и може настати услед различитих механизма, укључујући смањену продукцију тромбоцита, повећано уништење, повећану потрошњу или редистрибуцију. Код паса, тромбоцитопенија је често повезана са имунолошким посредованим деструкцијама (ИМТП), инфективним болестима попут ехрлицхиозе, бабезиозе и лептоспирозе, неоплазијама, токсичним оштећењем коштане сржи или лековима као што су сулфонамиди. Такође, може настати услед дисеминоване интраваскуларне коагулације (ДИК) или као реакција на масивне трансфузије крви. Код мачака, тромбоцитопенија може бити изазвана инфекцијама као што су ФелВ, ФИВ, хемобартонелоза и токсоплазмоза, имунолошким поремећајима, неоплазијама, ДИК-ом или токсинима. Код коња, тромбоцитопенија често прати бактеријемije, сепсе, имунолошке поремећаје или токсичне реакције, док су инфективни узроци, попут

анаплазмозе, такође значајни. Код говеда, тромбоцитопенија може настати због инфекција као што су анаплазмоза, бабесиоза и теилериоза, токсичних стања попут микотоксикоза или имунолошки посредованих болести. Код свиња, узроци тромбоцитопеније укључују инфекције, попут класичне свињске куге и цирковируса типа 2 (PCV-2), као и токсичне ефекте микотоксина или лекова. Код птица, тромбоцитопенија се ретко бележи, али може бити повезана са бактеријским и вирусним инфекцијама, као што су пситакоза и инфекција вирусом Марекове болести, или са нутритивним недостацима и токсичностима. Код рептила, тромбоцитопенија се може јавити услед бактеријских и гљивичних инфекција, паразитских инфестација или озбиљних повреда које доводе до губитка крви и повећане потрошње тромбоцита. Дијагностика тромбоцитопеније укључује хематолошке анализе, серолошке и молекуларне тестове за идентификацију инфективних узрока, преглед коштане сржи за процену хематопоезе и анализу клиничке слике, док се лечење усмерава на основни узрок, укључујући антимикробну терапију, имуносупресиве или трансфузију тромбоцита у тешким случајевима.

Тромбоеластографија (ТЕГ) је метода која омогућава детаљну процену хемостазе, односно способности згрушавања крви, код различитих животињских врста. Овај дијагностички алат пружа информације о динамици формирања угрушка, његовој чврстоћи и стабилности, као и о фибринолизи, што га чини посебно корисним за праћење хемостатских поремећаја у различитим патолошким стањима. Код паса, тромбоеластографија се често користи за дијагностику коагулопатија повезаних са болестима јетре, тровањем антикоагулансима, дисеминованом интраваскуларном коагулацијом (ДИК) и другим поремећајима згрушавања. ТЕГ омогућава диференцијацију хиперкоагулабилних и хипокоагулабилних стања, што је важно за циљано лечење и праћење терапијског одговора. Код мачака, тромбоеластографија се користи у дијагностици и праћењу тромбоемболијских болести, нарочито код мачака са хипертрофичном кардиомиопатијом. ТЕГ може помоћи у процени ризика од стварања тромба, као и у прилагођавању антикоагулантне терапије. Код коња, тромбоеластографија се најчешће користи за праћење коагулацијског статуса код болести попут ендотоксемије, сепсе и ламинитиса. ТЕГ је користан за процену равнотеже између коагулације и фибринолизе, што је кључно за препознавање компликација повезаних са хиперкоагулабилношћу или хеморагијом.

Интерпретација тромбоеластографске (ТЕГ) криве омогућава детаљну процену свих фаза хемостазе, укључујући формирање угрушка, његову стабилност и разградњу. Крива се састоји од неколико кључних параметара који пружају информације о функционалности различитих компоненти система згрушавања крви. Први параметар, Р-време (реакцијско време), представља време потребно за почетак формирања фибринског угрушка. Продужено Р-време указује на недостатак коагулационих фактора, присуство антикоагуланса или хипокоагулабилно стање, док скраћено Р-време указује на хиперкоагулабилно стање. Други параметар, К-време (време ојачања угрушка), мери брзину формирања чврстог фибринског угрушка. Продужен К-време указује на смањену концентрацију фибриногена или функционалност тромбоцита, док скраћено К-време указује на хиперкоагулабилност. Угао (Angle) представља брзину полимеризације фибрина и агрегације тромбоцита. Мањи угао указује на хипокоагулабилно стање због дефицита фибриногена или дисфункције тромбоцита, док већи угао указује на хиперкоагулабилност. Максимална амплитуда (МА) је мера максималне чврстоће угрушка

и зависи од функционалности тромбоцита и фибриногена. Смањена МА указује на тромбоцитопенију или тромбоцитопатију, док повећана МА указује на хиперкоагулабилност. Параметар LY30 (лиза угрушка на 30 минута) процењује степен фибринолизе 30 минута након постизања МА. Повећана LY30 указује на хиперфибринолизу, што може бити повезано са дисеминованом интраваскуларном коагулацијом (ДИК), траумом или сепсом, док смањена LY30 указује на инхибицију фибринолизе. Коагулацијски индекс (CI) је комбиновани параметар који представља општу функционалност коагулације, при чему негативан CI указује на хипокоагулабилност, док позитиван CI указује на хиперкоагулабилност. Нормална тромбоеластографска крива указује на адекватну хемостазу са свим параметрима унутар референтних вредности. Хипокоагулабилна крива карактерише се продуженим Р и К временом, смањеним углом и МА, што указује на дефицит коагулационих фактора, тромбоцитопенију или дисфункцију фибриногена. Насупрот томе, хиперкоагулабилна крива има скраћено Р и К време, повећан угао и МА, што указује на повећану активацију коагулационог система, као што се виђа код инфламације или тромбофилије. Хиперфибринолитичка крива показује нормалан почетак коагулације, али брзо смањење МА и повећану вредност LY30, што указује на прекомерну фибринолизу. Тромбоеластографија је непроцењив дијагностички алат који омогућава прецизну процену хемостатских поремећаја, циљано лечење и персонализовани приступ у терапији код животиња.

Тровања код животиња - Тровања код животиња представљају значајан ветеринарски проблем, а узроци варирају у зависности од врсте, навика исхране и окружења. Различити токсини изазивају специфичне клиничке знакове и промене у лабораторијским налазима, што је кључно за дијагностику и терапију.

Код паса и мачака, тровање родентицидима (антикоагуланси) је често, а карактерише га продужено време коагулације (ПТ, АПТТ) и смањене вредности фактора коагулације, док је активност фибриногена смањена. Тровање чоколадом (теобромином) узрокује тахикардију, треморе и повећање АЛТ, АСТ, и ЦК у лабораторијским налазима. Ксилитол, заслађивач у људској храни, изазива хипогликемију и повећане ензиме јетре (АЛТ, АСТ). Тровање ацетаминофеном код мачака доводи до метхемоглобинемije, хемолize и повећања билирубина, уз смањену концентрацију кисика у крви.

Код говеда, тровање нитратима/нитритима из контаминиране хране изазива метхемоглобинемiju и хипоксију, што се у лабораторији огледа у повећаном нивоу метхемоглобина и смањеној сатурацији кисеоника. Тровање оловом из старог фарбаног материјала доводи до нервних симптома, са појавом базофилне стиплинг еритроцита и повећањем концентрације олова у крви. Микотоксикозе (афлатоксини) узрокују хепатопатије са повећањем ензима јетре (ГГТ, АСТ), као и хипоалбуминемiju.

Код коња, тровање монензином (јонофорни антибиотици) изазива миопатије и кардиопатије, са повећаним вредностима ЦК, АСТ и ЛДХ у крви. Тровање алкалоида (нпр. биљке попут ларкспур-а) изазива неуромускуларне симптоме и повишене ензиме јетре. Тровање кверцетином и другим биљним токсинима може довести до хемолитичке анемије и хипербилирубинемije.

Код свиња, тровање сољу због неадекватног приступа води изазива едем мозга, а лабораторијски се може идентификовати хипер- и хипернатремија. Микотоксикозе (зеараленон, ДОН) изазивају естрогене ефекте и смањење плодности, уз

хипоалбуминемију и поремећај функције јетре. Органофосфати доводе до инхибиције ацетилхолинестеразе, уз појаву хиперсекреције и мишићних фасцикулација.

Код птица, тровање тешким металима (олово, цинк) из кавеза или хране манифестује се анемијом, повећањем АСТ, ЛДХ и ЦК. Тровање авокадом изазива кардиотоксичност и едем плућа, док лабораторијски налази укључују повећане ензиме јетре и знакове хипоксије. Микотоксикозе изазване плеснима могу изазвати хеморагијску дијатезу и хипоалбуминемију.

Код рептила, тровање инсектицидима (органофосфати, карбамати) изазива неуролошке симптоме и смањење активности ацетилхолинестеразе у крви. Тровање витамином Д услед предозирања суплемената доводи до хиперкалцемије и хиперфосфатемије, док су параметри функције бубрега (уреа, креатинин) повишени.

Тропонин I кардиоспецифични (сTnI) је протеин који је део тропонин комплекса, одговорног за регулацију контракције срчаних и скелетних мишића. Овај изоензим је специфичан за срчани мишић и сматра се веома поузданим биомаркером за оштећење миокарда код паса. Нормалне вредности сTnI у серуму код здравих паса су веома ниске, често испод границе детекције стандардних тестова, док његово повећање указује на оштећење мембране кардиомиоцита које доводи до ослобађања тропонина у циркулацију. Патолошка стања која могу изазвати повећање нивоа сTnI укључују миокардитис, дилатативну кардиомиопатију, трауму срца, токсично оштећење миокарда и хипоксију. Мерење сTnI код паса се обавља уз помоћ високоосетљивих имуноензимских тестова и има значајну примену у дијагнози и праћењу срчаних обољења. Поред идентификације оштећења срчаног мишића, повишене концентрације сTnI могу указивати на тежину болести и пружити важне прогностичке информације. У пракси, вредности сTnI се често користе у комбинацији са другим дијагностичким тестовима, као што су ехокардиографија и електрокардиографија, за добијање свеобухватне слике стања пацијента. Иако је сTnI високо специфичан за оштећење срца, није у стању да пружи информације о узроку оштећења, због чега је неопходна додатна дијагностика и процена клиничких знакова. Ограничења у коришћењу овог биомаркера укључују могуће утицаје неправилног узорковања или привремених физиолошких поремећаја на резултате теста. Упркос тим ограничењима, мерење сTnI представља кључну компоненту у дијагностичком и терапијском процесу код паса са обољењима срчаног мишића, јер омогућава праћење ефективности терапије и процену прогнозе. Кардиоспецифични тропонин I је стога важан алат у ветеринарској кардиологији који значајно доприноси разумевању и лечењу болести срца код паса. Код паса је овај ензим много специфичнији за оштећење срца неко срчани изоензим креатин киназе.

Тумор маркери у крви паса и мачака користе се за идентификацију, праћење и процену прогнозе различитих малигних обољења, али је њихова употреба врло ограничена, посебно када се ради о маркерима из крви. Анализом ових биомолекула из узорака крви могуће је детектовати специфичне типове тумора, проценити агресивност болести и пратити ефикасност терапије. Код паса се најчешће користе тумор маркери као што су тимидин киназа (TK1), која је маркер пролиферације ћелија повишен код малигних лимфома, леукемија и солидних тумора, те се користи за процену активности тумора и праћење терапије. Ц-реактивни протеин (ЦРП) представља неспецифичан инфламаторни маркер који је често повишен код различитих тумора и може указивати на инфламаторни

процес повезан с малигнитетом. Маркер Ц-кит (ЦД117) користи се за дијагностиковање мастоцитома, а његова повишена експресија указује на малигнитет мастоцитних ћелија. Алфа-фетопротеин (АФП) је маркер хепатоцелуларних карцинома и герминативних тумора, док лактат дехидрогеназа (ЛДХ), која је повишена код лимфома и леукемија, указује на метаболичку активност туморских ћелија. Карбохидратни антигени (ЦА 15-3 и ЦА 19-9) користе се за детекцију тумора млечне жлезде и гастроинтестиналног система, а простатични специфични антиген (ПСА) користи се за истраживање тумора простате. Код мачака, тумор маркери укључују тимидин киназу (ТК1), која је повишена код малигних лимфома и неких карцинома и користи се за праћење прогресије болести и терапијског одговора. Антиген вируса мачје леукемије (ФелВ) је маркер за лимфопрролиферативне болести повезане с ФелВ инфекцијом, а његово присуство указује на повећан ризик од лимфома. Ц-кит (ЦД117) се користи за идентификацију мастоцитома, док лактат дехидрогеназа (ЛДХ) помаже у детекцији лимфома и других малигнитета, при чему повишене вредности могу указивати на присуство метаболички активних тумора. Карбохидратни антигени (ЦА 15-3 и ЦА 19-9) повезани су с туморима млечне жлезде и гастроинтестиналним туморима, док се алфа-фетопротеин (АФП) користи за детекцију хепатоцелуларних карцинома и герминативних тумора.

Примена тумор маркера укључује рану детекцију малигних обољења, праћење тока болести кроз процену одговора на терапију и прогресију тумора, као и откривање рецидива путем повишених нивоа маркера након третмана. Њихова прогностичка вредност омогућава процену агресивности болести и очекиваног трајања ремисије. Тумор маркери се не користе изоловано, већ у комбинацији с клиничким, лабораторијским и хистопатолошким налазима ради постављања тачне дијагнозе и дефинисања терапијских стратегија.

Биомаркери који се користе у патологији су митотски индекс, Ц-кит и ген п-53. Митотски индекс - представља универзално средство за процену прогнозе и исхода терапије код већине тумора. Повишен митотски индекс углавном указује на тумор високог степена малигнитета. Ова информација може бити корисна за предвиђање реакције пацијената на хемиотерапију и радиотерапију, будући да су ове методе усмерене на инхибицију ћелијске деобе. Међу биомаркерима који се користе за мерење ћелијске пролиферације у патологији издвајају се аргирофилна техника бојења регије организатора нуклеолуса (АгНОР), антиген пролиферирајуће ћелије језгра (ПЦНА) и Ки-67. Ц-кит - Тирозин-киназа (ТК) имају широк спектар функција у организму, а многе од њих учествују у настанку карцинома. Због тога је развијена читава класа лекова који инхибирају њихову активност. Неки од ТК путева укључују ензим Бцр-Абл, присутан код хроничне мијелоидне леукемије, васкуларни ендотелијални фактор раста (ВЕГФ), кључан за ангиогенезу, и ц-кит, који утиче на преживљавање, пролиферацију и диференцијацију ћелија. Код трећине мастоцитома код паса, ц-кит је мутиран и спонтано активиран, што резултира неконтролисано пролиферацијом ћелија. Регистровани су лекови који селективно блокирају функцију мутираног ц-кит рецептора и тиме смањују активност тумора. Анализом мутације ц-кита у ткивним узорцима тумора може се предвидети ефикасност ових лекова, при чему су мутирани облици ц-кита за 50% осјетљивији на терапију у поређењу с нормалним обликом. Мастоцитомима с мутацијом ц-кита имају лошију прогнозу. П-53 ген, познат као тумор-супресорски ген, игра кључну улогу у репарацији ДНК. Када дође до мутације овог гена, његова функција је нарушена, па оштећена ДНК може проћи кроз ћелијски циклус, чиме се повећава ризик од развоја

тумора. Мутације п-53 гена забележене су код различитих тумора код паса, мачака и људи. Имунохистохемијском анализом може се детектовати прекомерна експресија мутираног п-53 гена.

Биомаркери тумора у серуму су хиперкалцемија (као важан знак паранеопластичног синдрома), концентрација АЛП, протеина акутна фазе и др. Хиперкалцемија се сматра најпознатијим маркером тумора код паса и мачака. Најчешће је изазвана производњом пептида повезаних с паратироидним хормоном, који подижу ниво калцијума у серуму. Такође, може настати услед поремећаја у хомеостази калцијума, укључујући апсорпцију из црева, функцију бубрега, рад паратироидне и тироидне жлезде или метаболичку улогу кости као складишта калцијума. Тумори који се често повезују с хиперкалцемијом укључују лимфоме код паса и мачака, аденокарциноме апокриних жлезда аналних врећица код паса, као и тимоме и планоцелуларне карциноме код мачака. Препоручује се мерење јонизованог калцијума, јер су забележени случајеви у којима је укупни калцијум био нормалан, док је јонизовани био повишен. Повећање нивоа алкалне фосфатазе (АЛП) препознато је као негативни прогностички фактор код остеосаркома код паса. Ово повећање примећено је како за укупни АЛП, тако и за специфичне изоензиме АЛП везане за кости. Протеини акутне фазе показују промене у присуству неопластичних стања. Најпознатији међу њима су Ц-реактивни протеин (ЦРП) и хаптоглобин. Иако је ЦРП повишен у различитим стањима, попут инфламација, постоперативних траума, обољења јетре и дијабетеса, његова примена као биомаркера тумора остаје предмет расправе. Ипак, с обзиром на то да инфламација представља кључну карактеристику рака, ЦРП има одређену улогу у дијагностици. Код пацијената с потврђеном дијагнозом рака, вредности ЦРП-а могу пружити прогностичке информације. Такође, ЦРП се користи у комбинацији с тимидин-киназом 1 (ТК1) у алгоритму названом Индекс неоплазије. Тимидин-киназа 1 (ТК1), протеин специфичан за С-фазу ћелијског циклуса, повезан је с пролиферацијом ћелија и користи се у имунохистохемији за детекцију РНК/протеинске експресије у ткивним узорцима, као и за мерење активности или нивоа протеина у серуму пацијената. ТК1 је кључан у рециклирању дезокситимидинске трифосфата (дТТП), прекурсора ДНК који је потребан за репликацију и репарацију. До сада је ТК1 највише коришћен као серум маркер код хематолошких малигнитета код људи, али се показао ефикасним и код малигнитета код паса, као што су лимфом и хемангиосарком. Будући да ниво ТК1 одражава ћелијску пролиферацију, користи се за рану дијагнозу малигнитета, процену прогнозе тумора, праћење одговора на терапију и откривање рецидива пре појаве клиничких симптома.

Триглицериди су основни облик складиштења и преноса масти у организму и кључан извор енергије за ћелије код свих животињских врста. Физиологија триглицерида укључује њихову синтезу, транспорт, складиштење и разградњу, што се одвија у зависности од специфичних потреба и метаболичких особина сваке врсте. Синтеза триглицерида одвија се првенствено у јетри, масном ткиву и цревима. Код преживара, попут говеда и оваца, значајан део триглицерида долази из синтезе у јетри јер је унос масти из исхране ограничен. Ферментација у бурагу претвара већину масти у масне киселине кратког ланца, које се затим користе за синтезу триглицерида. Код моногастричних животиња, као што су свиње, главни извор триглицерида је исхрана богата мастима, а јетра игра кључну улогу у њиховој обради и складиштењу. Транспорт триглицерида у крви одвија се путем липопротеина, првенствено хиломикрона и

липопротеина врло ниске густине (ВЛДЛ). Код паса и мачака, који уносе веће количине масти кроз високопротеинску исхрану, триглицериди се ефикасно транспортују и користе као извор енергије, док код птица, посебно у периодима ношења јаја, ВЛДЛ доминира, јер је кључан за пренос масти до јајника за синтезу жуманцета. Рибе, нарочито оне које живе у хладним водама, имају специфичне триглицериде богате масним киселинама које им омогућавају прилагођавање ниским температурама и различитим еколошким условима. Складиштење триглицерида одвија се у масном ткиву, које служи као главни енергетски резервоар. Код преживара, масно ткиво има мању улогу у краткорочном складиштењу енергије због специфичности њиховог метаболизма, док код моногастричних животиња и птица, масно ткиво пружа значајне енергетске резерве које се брзо мобилизују током периода повећаних потреба, попут лактације или интензивне физичке активности. Разградња триглицерида започиње липолизом, процесом у којем липазе разграђују триглицериде на масне киселине и глицерол, који се затим користе за производњу енергије. Код животиња са високим енергетским захтевима, попут тркачких коња или паса у раду, разградња триглицерида је убрзана како би се обезбедила довољна количина енергије. Код птица и риба, овај процес је прилагођен специфичностима њихове физиологије и окружења. Разлике у физиологији триглицерида између животињских врста резултат су еволуцијских прилагођавања њиховим прехранбеним навикама, еколошким условима и енергетским потребама. Разумевање ових разлика кључно је за правилно управљање исхраном, здрављем и метаболичким стањем различитих врста животиња.

Повишена концентрација триглицерида у крви код животиња, позната као хипертриглицеридемија, резултат је различитих фактора који утичу на метаболизам липида, а заједнички узроци укључују ендокрине поремећаје, метаболичке и системске болести, неадекватну исхрану, генетске предиспозиције и физиолошке факторе. Ендокрини поремећаји, попут дијабетеса мелитуса, доводе до поремећаја у регулацији инсулина, што резултира повећаном мобилизацијом масти из масних депоа и смањеном разградњом триглицерида. Хиперадренално-кортицизам, односно Кушингова болест, изазива вишак кортизола који повећава липолизу и синтезу триглицерида у јетри, док хипотироидизам, због успореног метаболизма, узрокује смањену разградњу триглицерида и повећање њихове концентрације у крви. Међу метаболичким и системским болестима, панкреатитис, било акутни или хронични, омета нормалан метаболизам липида, док хепатобилијарне болести, као што су оштећење јетре и застој жучи, ремете синтезу и елиминацију липида. Поред тога, бубрежне болести, укључујући хроничну болест бубрега и нефротски синдром, могу изазвати хиперлипидемију због поремећаја метаболизма протеина и липида. Неприлагођена исхрана, посебно богата мастима и угљеним хидратима, често доводи до акумулације триглицерида у плазми код домаћих животиња, док продужени пост или неухрањеност могу изазвати мобилизацију триглицерида из депоа, што повећава њихову концентрацију у крви. Генетске предиспозиције, као код одређених раса паса попут шнауцера и јоркширских теријера, могу допринети хипертриглицеридемији због наследних поремећаја метаболизма липида. Физиолошки фактори, попут трудноће, узрокују повећање триглицерида због хормонских промена и потребе за енергетским резервама, док хронични стрес и повећано лучење катехоламина могу мобилисати масти и повећати ниво триглицерида у крви. Нивои триглицерида могу се мерити у сумњивим хилозним изливима. Нивои триглицерида у течности који су већи од нивоа триглицерида у серуму у изливу указују на хилозни излив, чак и ако излив није грубо млечне боје.

Снижена концентрација триглицерида у крви код животиња, позната као хипотриглицеридемија, може бити последица различитих фактора који утичу на смањену синтезу, повећану разградњу или недостатак енергетских супстрата за стварање триглицерида. Један од главних узрока су поремећаји у исхрани, где недовољан унос хранљивих материја, посебно масти и угљених хидрата, смањује доступност супстрата за синтезу триглицерида. Продужени пост или изгладњивање такође могу исцрпети енергетске резерве и довести до смањења концентрације триглицерида у крви. Метаболичке и системске болести, попут обољења јетре, као што су хепатичка инсуфицијенција или тешка јетрена оштећења, смањују синтезу триглицерида због губитка функционалног ткива. Поред тога, малапсорпција масти у гастроинтестиналном тракту, која може бити последица инсуфицијенције панкреаса или упалних болести црева, смањује унос липида и њихову доступност за метаболичке процесе. Ендокрини поремећаји, као што је хипоадренокортицизам (Алдисонова болест), изазивају недостатак глукокортикоида, што смањује липолизу и производњу триглицерида, док хиперинсулинемија може повећати искоришћавање триглицерида у ткивима и смањити њихов ниво у крви. Повећана потрошња енергије, попут оне узроковане интензивном физичком активношћу или продуженим стресом, може довести до повећане мобилизације и разградње триглицерида, што резултира њиховим смањењем у крви. Хроничне инфекције или болести праћене високом метаболичком потребом, као што су сепса или тешке упалне болести, додатно доприносе овом стању. Физиолошка стања, попут трудноће или лактације, изазивају редистрибуцију липида и њихову употребу за производњу млека, што смањује ниво триглицерида у циркулацији. Код младих животиња у фази брзог раста, повећана потрошња енергије за развој такође може допринети нижим нивоима триглицерида. Комбинација ових фактора често доводи до снижене концентрације триглицерида у крви, а разумевање узрока кључно је за правилну дијагнозу и терапију у ветеринарској медицини.

Трипсин-Like Имунореактивност (TLI) је лабораторијски тест који мери ниво трипсина и његових прекурсора, трипсиногена, у серуму. Трипсин је протеолитички ензим који се производи искључиво у панкреасу и ослобађа у дигестивни тракт у облику трипсиногена. TLI тест представља златни стандард за процену функције екзокриног панкреаса код паса и мачака. Низак ниво TLI најчешће указује на екзокрину инсуфицијенцију панкреаса (EPI), стање које настаје услед недовољне производње дигестивних ензима. Код паса, EPI је чешћи и најчешће се јавља услед атрофије ацинарних ћелија, нарочито код младих паса одређених раса, као што су немачки овчари, док се код мачака EPI јавља ређе, обично као последица хроничног панкреатитиса. Повишен TLI може указивати на акутни панкреатитис, јер упала доводи до ослобађања трипсина у циркулацију. Ипак, TLI није најосетљивији тест за дијагнозу панкреатитиса, јер нивои могу брзо опати како се панкреас опоравља или у случају хроничног панкреатитиса. TLI је веома специфичан за функцију екзокриног панкреаса, јер се трипсин и трипсиноген производе искључиво у овом органу. TLI тест се често комбинује са другим тестовима, као што су серумска липаза специфична за панкреас (PLI), витамин B12 и фолат, како би се добила комплетнија слика стања дигестивног система. Нормалне вредности TLI код паса износе 5–35 µg/L, док код мачака износе 12–82 µg/L. Низак ниво TLI, мањи од 2.5 µg/L код паса и мањи од 8 µg/L код мачака, указује на екзокрину инсуфицијенцију панкреаса. Симптоми овог стања укључују хроничну дијареју,

стеатореју, губитак тежине и повећан апетит. Повишен TLI, већи од 35 $\mu\text{g/L}$ код паса и 82 $\mu\text{g/L}$ код мачака, може указивати на акутни панкреатитис или привремену упалу, али и на стања која изазивају блокаду изводних путева панкреаса. Граничне вредности TLI захтевају поновљено тестирање или додатне дијагностичке тестове, као што су PLI, витамин B12 или биопсија панкреаса. Иако је TLI користан дијагностички алат, има одређена ограничења. Полуживот TLI је релативно кратак, што може довести до варијација у резултатима у зависности од времена узимања узорка. У случају хроничног панкреатитиса, TLI може остати у нормалном опсегу због резидуалне функције панкреаса. Такође, узорак крви мора бити адекватно обрађен и чуван, јер хемолиза или неправилно руковање могу утицати на резултате. У закључку, TLI је веома користан тест за дијагнозу екзокрине инсуфицијенције панкреаса и процену стања егзокриног панкреаса код паса и мачака. У комбинацији са другим лабораторијским и клиничким налазима, овај тест омогућава прецизну дијагнозу и праћење болести панкреаса.

Уреа и узроци њене повећане вредности:

Хронична бубрежна инсуфицијенција - Оштећење бубрега доводи до смањене способности гломерула да филтрира уреу из крви, што резултира њеним накупљањем. Ово је чест узрок код старијих паса и мачака.

Акутно оштећење бубрега (АКИ) - Брзи губитак бубрежне функције, изазван токсичним супстанцама, инфекцијама (нпр. лептоспироза), хипоперфузијом или опструкцијом, доводи до наглог повећања урее.

Дехидрација - Смањен волумен циркулишуће крви услед дехидрације смањује проток кроз бубреге, што резултира смањеном филтрацијом и порастом урее.

Висок унос протеина у исхрани - Конзумирање хране богате протеинима повећава производњу амонијака у јетри, који се метаболише у уреу. Ово је чест узрок код месождера попут паса.

Гастроинтестинална хеморагија - Крварење у гастроинтестиналном тракту доводи до разградње протеина из крви у дигестивном систему, што повећава ниво урее у крви.

Кардиоваскуларни шок - Хипотензија и хипоперфузија бубрега током шока смањују гломеруларну филтрацију, што повећава концентрацију урее.

Ендокрини поремећаји - Код болести као што је хиперадреналног хиперандрогенизма (Кушингова болест), катаболизам протеина је повећан, што узрокује раст урее у крви.

Обструкција уринарних путева - Застој урина због камена, тумора или уретралне опструкције спречава излучивање урее и узрокује њен пораст.

Инфекције или упале бубрега (нпр. пијелонефритис) - Упални процеси у бубрезима нарушавају њихову функцију, што резултира задржавањем урее.

Хепаторенални синдром - Оштећење јетре у комбинацији с бубрежном инсуфицијенцијом смањује способност метаболизма и елиминације урее, што узрокује повећање концентрације у крви.

Узроци снижене вредности урее су:

Смањен уноса протеина у исхрани (дијета са ниским садржајем протеина, анорексија), отказивања јетре, смањене функционалне масе јетре, портосистемски шант или конгенитални недостатак ензима циклуса урее (који се ређе јавља).

Повећано излучивање уреје је последица кристалоидне или осмотске диурезе или изражене полидипсије/полиурије, као што је случај са јатрогено изазваним појачаним уносом воде (ретко) или нефрогеним или централним дијабетес инсипидусом.

Даља дијагностичка разматрања подразумевају да се одреди специфична тежина урина и процени количина произведеног урина. Код високих концентрација проценити постојање поремећаја који доводе до смањеног одговора бубрега на антидиурезни хормон. Ако је концентрација нижа испитати унос воде и одредити концентрацију калцијума и електролита.

Повишене вредности урее без промена у вредности креатинина може се видети код давања глукокортикоида или НСАИЛ.

Ако је ниво урее повишен а мокраћа изостенурична то указује на оштећену бубрежну функцију. У одређеним ситуацијама као што су хипоадренкортицизам, дијабетес инсипидус и употреба диуретика могу проузроковати ове лабораторијске промене без нужно смањене функције бубрега

Фактори коагулације (недостатак) - Недостатак фактора коагулације код различитих животињских врста може изазвати поремећаје у процесу згрушавања крви, што резултира повећаном склоношћу ка крварењу или немогућношћу заустављања крварења након повреде. Код паса је хемофилија А најчешћи поремећај повезан с недостатком фактора VIII, док је хемофилија Б, која се односи на недостатак фактора IX, такође присутна, али ређа. Ови поремећаји су генетски и наследни, често се појављују код одређених раса, попут немачких овчара или лабрадора. Код мачака, поремећаји коагулације су ређи, али се могу јавити недостаци фактора XII, који обично не изазивају клиничке симптоме. Код коња су забележени случајеви недостатка фактора VIII или IX, што може довести до озбиљних крварења, нарочито након повреда или хируршких захвата. Код говеда, наслеђени поремећаји коагулације укључују дефицијенцију фактора XI, која се често јавља код одређених раса попут холштајнских говеда, и може узроковати продужено крварење након повреда. Код птица, поремећаји коагулације су ретки, али могу укључивати недостатак витамина К, који је есенцијалан за активацију неколико фактора коагулације, као што су фактори II, VII, IX и X. Код рептила, поремећаји коагулације су слабо истражени, али се зна да ови фактори имају мању улогу у хемостазу због природно споријег процеса згрушавања. Дијагноза недостатка фактора коагулације се обично поставља анализом згрушавања крви, као што су мерење времена протромбина (ПТ) и активiranог парцијалног тромбопластинског времена (аПТТ), а лечење укључује давање свеже замрзнуте плазме, специфичних фактора коагулације или витамина К, у зависности од узрока.

Фибриноген је кључни протеин коагулације и акутне фазе који игра важну улогу у процесу згрушавања крви и одговору на инфламацију. Његов ниво у крви може варирати у зависности од врсте поремећаја или болести, а промене у концентрацији фибриногена често су повезане с различитим патолошким процесима код животиња. Хипофибриногенија, смањена концентрација фибриногена, може бити резултат дисеминоване интраваскуларне коагулације (ДИК), тешких болести јетре (попут инсуфицијенције или цирозе) или генетских дефицита који утичу на синтезу фибриногена. Код паса и мачака, хипофибриногенија се често јавља код тешких системских инфекција, ДИК-а или масивних оштећења јетре. Код коња, може се приметити у случајевима ендотоксемије, сепсе или тешких повреда јетре, док је код говеда повезана с обољењима јетре или озбиљним инфекцијама, попут септикемије. Хиперфибриногенија, повећана концентрација фибриногена, најчешће је повезана с

инфламаторним процесима, јер је фибриноген један од главних акутнофазних протеина. Код паса и мачака, инфламаторна стања попут панкреатитиса, пиометре или перитонитиса често узрокују пораст фибриногена. Код коња, повећање фибриногена је значајан маркер хроничне инфламације, ендометритиса, апсцеса или перитонитиса. Код говеда, хипофибриногенија може указивати на инфекције попут маститиса, метритиса или пнеумоније, док је код свиња повезана с бактеријским инфекцијама, попут салмонелозе или стрептококних инфекција. Код птица, промене у фибриногену су ређе документоване, али се могу јавити код тешких инфекција или повреда. Код рептила, поремећаји фибриногена су слабо истражени, али могу бити повезани с бактеријским инфекцијама или траумама. Дијагноза поремећаја фибриногена укључује анализе коагулације, као што су одређивање нивоа фибриногена, тромбоеластографија и други тестови коагулације, уз процену клиничке слике и основних болести. Лечење зависи од узрока поремећаја и може укључивати терапију инфекција, имunosупресивне лекове, подршку функцији јетре или заменску терапију код тешких коагулопатија.

Повишен фибриноген захтева додатну анализу анамнезе или поажљивији преглед. Треба урадити комплетну крвну слику и утврдити постојање инфламаторног леукограма као и биохемијски профил серума. Ако се докаже хиперглобулинемија, потребно је урадити електрофоретско раздвајање протеина серума како би се утврдила могућа поликлонална гамопатија. У случају снижених вредности урадити комплетан профил когулације и утврдити ризик од постојања ДИК-а, а поред наведеног потребно је испитати биохемијске параметер јетре како би се испитао функционални статус хепатоцита и билијарног система, обзиром на значај у синтези фибриногена.

Фон Вилебрандов фактор (vWF) је кључни протеин укључен у примарну хемостазу, који омогућава адхезију тромбоцита за субендотелијум и међусобно повезивање тромбоцита током стварања почетног угрушка. Недостатак или дисфункција овог фактора код животиња може довести до поремећаја згрушавања крви познатог као фон Вилебрандова болест (vWD). Фон Вилебрандова болест је најчешћи наследни поремећај крварења код паса и јавља се у три типа:

Тип 1: Карактерише се смањеном концентрацијом vWF-а, уз очувану функцију. Ово је најблажи облик и јавља се код раса као што су добермани, пудле и шелтији.

Тип 2: Одликује се смањеном концентрацијом и функцијом vWF-а, што доводи до озбиљнијих симптома. Чешћи је код немачких краткодлаких птичара.

Тип 3: Потпуни недостатак vWF-а, који изазива тешке клиничке симптоме, попут спонтаног крварења. Овај тип се јавља код раса као што су шкотски теријери и ши-цу.

Код мачака је фон Вилебрандова болест веома ретка, али забележени су појединачни случајеви. Код коња, смањење нивоа vWF-а може се јавити код неких раса попут арапских коња, иако је овај поремећај ређи него код паса. Код говеда и других домаћих животиња, vWF поремећаји нису тако често забележени.

Дијагностиковање vWD укључује мерење концентрације vWF-а у плазми, анализу његове функције помоћу агрегације тромбоцита, као и генетско тестирање за идентификацију мутација специфичних за поједине врсте и расе. Симптоми укључују продужено крварење након повреда или операција, спонтано крварење из носа, десни или гастроинтестиналног тракта, те хематоме.

Фосфор (P) је кључан за бројне биолошке процесе, укључујући синтезу АТП-а, нуклеинских киселина, ћелијску сигнализацију, као и структуралну стабилност костију и зуба. Равнотежа фосфора у организму регулисана је хормонима као што су паратироидни хормон (ПТХ), витамин Д и фибробластни фактор 23 (FGF-23). Заједнички узроци хиперфосфатемије укључују хроничну бубрежну инсуфицијенцију, при чему бубрези губе способност ефикасног излучивања фосфора, што доводи до његовог накупљања у крви. Такође, прекомеран унос фосфора кроз исхрану, посебно када је поремећен однос калцијума и фосфора, може изазвати хиперфосфатемију. Ослобађање фосфора из ткива услед процеса као што су рабдомиолиза, хемолиза или синдром туморске лизе, такође доприноси повећању његовог нивоа у крви. Хипоактивност паратиреоидних жлезда, која доводи до смањеног лучења ПТХ, смањује излучивање фосфора путем бубрега, што додатно повећава његов ниво. Поред тога, витамин Д токсичност, узрокована прекомерним уносом овог витамина, повећава апсорпцију фосфора из црева, што може допринети хиперфосфатемији. Насупрот томе, заједнички узроци хипофосфатемије укључују смањену апсорпцију фосфора, која може бити последица исхране сиромашне фосфором или гастроинтестиналних поремећаја који ометају апсорпцију. Повећано излучивање фосфора често је повезано са хиперпаратиреоидизмом, који, било примарни или секундарни, повећава бубрежно излучивање фосфора. Редистрибуција фосфора у организму, као што је случај код алкалемеије или нагле примене инсулина, доводи до премештања фосфора из екстрацелуларног у интрацелуларни простор, што смањује његов ниво у плазми. Акутна хипофосфатемија код лечења дијабетеса и дијабетичне кетоацидозе повећава ризик од настанка хемолизичке анемије. Недостатак витамина Д, односно његовог активног облика, смањује апсорпцију фосфора из црева, чиме се доприноси хипофосфатемији. Периоди интензивног раста, трудноће или лактације, који повећавају захтеве за фосфором, такође могу довести до хипофосфатемије уколико унос овог минерала није адекватан. Међутим, сасвим млади месоједу могу имати природно повишене вредности фосфора. Ови поремећаји могу значајно утицати на метаболичке процесе, функцију мишића, кости и енергетски метаболизам, због чега је разумевање њихових узрока кључно за дијагнозу и терапију код животиња.

Фруктозамин - Фруктозамин је спој настао гликацијом протеина плазме, најчешће албумина, при чему долази до неповратног везивања глукозе за аминокиселинске групе протеина. Овај параметар се користи као маркер за процену просечних нивоа глукозе у крви током претходне две до три недеље, што га чини корисним за праћење дугорочне контроле гликемије код дијабетичних животиња. За разлику од гликозилираног хемоглобина (ХбА1ц), који одражава гликемијску контролу на период од неколико месеци, фруктозамин пружа увид у краћи временски оквир, што је нарочито корисно код животиња са бржим метаболизмом протеина. Повишене вредности фруктозамина указују на хроничну хипергликемију, која је карактеристична за недовољно контролисани дијабетес. Насупрот томе, снижене вредности фруктозамина могу бити повезане са хипопротеинемијом, хипоалбуминемијом, хиперхидратацијом или бржом разградњом протеина услед неких других стања. Фруктозамин је посебно користан за праћење ефеката терапије дијабетеса код паса и мачака, омогућавајући процену адекватности примене инсулина и дијететских интервенција. Високе вредности фруктозамина током терапијског процеса указују на лошу гликемијску контролу, па се мора ревидирати терапија. Такође је поуздан у диференцијалној дијагнози транзиторне хипергликемије, која може бити

изазвана стресом, од хроничне хипергликемије код дијабетеса. Мерење фруктозамина је неопходан део клиничког управљања дијабетесом код животиња, јер омогућава објективну процену стабилности гликемије и доприноси смањењу ризика од компликација повезаних са хроничном хипергликемијом. Када се утврде неадекватне вредности потребно је испитати концентрацију глукозе и кетона у крви и урину и урадити доадтне функционалне тестове као што су орални или интравенски глукоза толеранс тест у циљу изврђивања инсулинске резистенције. У случају хипопротеинемије, хипоалбуминемије или хипертиреоидизма долази до смањења вредности фруктозамина због недостатка протеинских носача. Фруктозамин нема велики значај у дијагностици тренутне или хроничне хипогликемије.

Хематокрит и еритроцитни индекси (MCV, MCH, MCHC) - Хематокрит представља проценат запремине крви који заузимају еритроцити и представља основни параметар за процену хематолошког статуса животиње. Еритроцитни индекси, као што су средњи корпускуларни волумен (MCV), средња корпускуларна концентрација хемоглобина (MCHC) и средњи корпускуларни хемоглобин (MCH), пружају додатне информације о величини и садржају хемоглобина у еритроцитима. Ови параметри имају значајну дијагностичку вредност у идентификацији и праћењу различитих болести. Код анемија, микроцитарна хипохромна анемија обично је повезана са недостатком гвожђа, који најчешће настаје услед хроничног губитка крви, као што је гастроинтестинално крварење. У овом случају, MCV је смањен (микроцитоза), као и MCHC (хипохромија), док је хематокрит снижен због смањеног броја еритроцита и њихове запремине. Макроцитарна нормохромна анемија се често јавља код регенеративних анемија, као што су оне настале услед акутног губитка крви или хемолитичких анемија, са повећаним MCV (макроцитоза), нормалним MCHC и сниженим хематокритом. Нормоцитарна нормохромна анемија је карактеристична за нерегенеративне анемије, попут оних изазваних хроничним болестима, бубрежном инсуфицијенцијом или поремећајима коштане сржи, где су MCV и MCHC нормални, али је хематокрит снижен.

У случајевима полицитемије, апсолутна полицитемија је последица повећане продукције еритроцита услед примарних (полицитемија вера) или секундарних узрока (хипоксија, тумори који производе еритропоетин). Овај облик полицитемије карактерише повишен хематокрит, уз нормалан или благо повишен MCV и MCHC. Релативна полицитемија, која се јавља услед дехидрације или губитка плазме, такође показује повећан хематокрит, док су MCV и MCHC обично нормални. Код инфективних болести, као што су хроничне инфекције или инфламације, анемија хроничних болести је чест налаз са нормоцитарним и нормохромним индексима, али снижени хематокрит. У случају паразитарних инфекција, попут бабезиозе, може доћи до хемолитичке анемије која узрокује микроцитозу или регенеративну макроцитозу.

Поремећаји хидратације такође утичу на хематокрит. Дехидрација доводи до релативног повећања хематокрита услед губитка плазме, уз обично нормалне MCV и MCHC, док претерана хидрација или хипопротеинемија могу изазвати смањење хематокрита услед разређења крви. У закључку, хематокрит и еритроцитни индекси пружају вредне информације за дијагнозу различитих болести и стања, укључујући анемије, полицитемију, инфективне и инфламаторне болести, као и поремећаје хидратације. Њихово тумачење мора бити обављено у контексту клиничке слике, анамнезе и додатних лабораторијских налаза.

НСТ вредности су нешто ниже од вредности запремине упакованих ћелија (PCV) јер у аутоматском израчунавању хематокрита нема заробљене плазме, што може бити случај код ручног одређивања PCV центрифугирањем. Извори варијација: Због променљивог MCV код домаћих животиња, вредности за НСТ могу бити погрешне ако инструмент није калибрисан за одређену врсту; Абнормална осмоалност плазме и равнотежа електролита такође могу довести до разлике између НСТ и PCV, али то обично нема клинички значај. Иако PCV мери промену запремине еритроцита како се јављају ин виво, разређивање еритроцита физиолошким раствором и њихово стајање у хематолошким инструментима могу проузроковати да се еритроцити врате на своју нормалну запремину.

Хистограм крвних ћелија је графички приказ дистрибуције величине и броја еритроцита, леукоцита и тромбоцита у узорку крви, који се користи у оквиру аутоматске анализе комплетне крвне слике. Овај приказ омогућава брзу идентификацију поремећаја формираних елемената крви и доприноси дијагнози анемија, леукемија и тромбоцитопенија. Код анемија, хистограм еритроцита приказује промене у величини еритроцита (MCV) и њиховој дистрибуцији (RDW). Микроцитна анемија узрокује помак хистограма улево због смањене величине еритроцита, док макроцитна анемија изазива помак удесно због повећаног MCV-а. Анизоцитоза, која представља хетерогеност величине еритроцита, манифестује се проширењем облика хистограма и повећањем RDW. У регенеративним анемијама, као што су хемолитичке анемије или анемије услед губитка крви, присуство ретикулоцита може проширити хистограм удесно. Код леукемија, хистограм леукоцита може указати на присуство незрих бластних ћелија, што се види као проширење криве и повећање броја великих ћелија. У акутним леукемијама значајан број бластних ћелија изазива повећање у регији великих ћелија, док се код хроничних леукемија уочава пораст специфичне популације зрих лимфоцита, као код хроничне лимфоцитне леукемије, или гранулоцита, као код хроничне мијелоидне леукемије. Леукемоидне реакције, које су често изазване инфекцијама или упалама, показују проширен хистограм гранулоцита без присуства бластних ћелија. Код тромбоцитопенија хистограм показује смањење укупног броја тромбоцита и промене у њиховој величини (MPV). Код деструктивних тромбоцитопенија, као што је имунолошка тромбоцитопенија, хистограм показује смањен број тромбоцита уз нормалан или повишен MPV због присуства младих, великих тромбоцита. У производним тромбоцитопенијама, попут аплазије коштане сржи, број тромбоцита је смањен уз снижен MPV због недостатка стварања нових тромбоцита. Регенерација мегакариоцитне активности, на пример након терапије, може се манифестовати повећањем великих тромбоцита на хистограму. Дистрибуција и помаци на хистограмима указују на специфичне патолошке процесе, док се хистограми интерпретирају заједно са осталим параметрима крвне слике, попут MPV, RDW, MPV, WBC диференцијала и клиничких налаза, ради постављања тачне дијагнозе. Код панцитопенија, које представљају смањење свих линија крвних ћелија, хистограми еритроцита, леукоцита и тромбоцита показују смањење висине, што указује на општи недостатак ћелија у циркулацији. Хистограм крвних ћелија пружа брз и визуелно разумљив приказ који помаже у откривању и праћењу хематолошких поремећаја, укључујући анемије, леукемије и тромбоцитопеније.

Грешке приликом бројања ћелија у анализатору које изазивају промене у хистограму - Иако је ЕДТА најчешће коришћени антикоагуланс, код неких појединаца

може доћи до формирања агрегата тромбоцита, леукоцита и еритроцита. У тим случајевима, употреба цитрата може помоћи у решавању проблема. Хепарин није ефикасан у спречавању скупљања тромбоцита, због чега се не користи код свих животињских врста, али је користан у неким, као што су птице и рибе. Такође, ЕДТА може изазвати хемолизу у одређеним врстама птица, рептила и риба, што утиче на тачност броја ћелија. Липемија, која подразумева повећану количину масти у крви, такође може изазвати лажно повећање вредности хемоглобина, МСНС, тромбоцита и леукоцита. Присуство хемоллизе или третмана узорка пре анализе може повећати МЦХЦ вредности, док присуство Хеинзових телашца у еритроцитима може довести до лажног повећања хемоглобина и других вредности. Грешке могу бити резултат и људских фактора, као што су неписменост у раду са тестовима, погрешно означавање узорака, грешке у разређивању или употреба застарелих реактива. Ови фактори могу довести до нетачних резултата ако опрема није правилно калибрисана или ако се користе неприкладни реактиви. Особине животињских врста такође играју улогу у тачности бројања. На пример, маčke имају велике тромбоците и мале еритроците, што може ометати разликовање ових ћелија у неким апаратима за бројање, попут импедансних бројача. Ово може довести до смањења броја тромбоцита, али истовремено и до повећања броја еритроцита, као и снижавања MCV и МСНС вредности. Слични проблеми се могу јавити и код других животињских врста са специфичним својствима крви. Применом напредних техника као што је ласерска протокоцитометрија могуће је аутоматски бројати диференцијалне леукоците, али и даље постоје проблеми са тачношћу бројања базофила.

Испитивање обојеног препарата крви се препоручује увек када постоји значајно одступање облика хистограма крвних ћелија на аутоматском бројачу.

Хемостазни поремећаји и њихова дијагностика - Крварење у великој мери зависи од тога да ли се ради о поремећају примарне хемостазе (тромбоцитни, екхимозије и петехије) или секундарне (проблеми са факторима коагулације, крварења већег обима, хематоми, крварења у природне отворе, хемартрозе и др.). Испитивање хемостазног система подразумева следеће: 1) Испитивање васкуларних поремећаја – тест капиларне отпорности, одређивање времена крварења; 2) Испитивање тромбоцитних поремећаја – одређивање броја тромбоцита, преглед размаза крви, преглед размаза костне сржи, одређивање адхезивности и агрегабилности тромбоцита; 3) Испитивање коагулацијских поремећаја – одређивање активисаног парцијалног тромбопластинског времена (АПТТ), одређивање протромбинског времена (ПТ), одређивање тромбинског времена (ТТ), активирано време коагулације (АЦТ); 4) Испитивање фибринолизног система - одређивање поремећаја фибринолизног система, фибрина, Д-димера; 5) глобални тестови.

Тест капиларне отпорности није оригинално намењен животињама, већ се користи у хуманој медицини. Њиме се испитује фрагилност капилара после десетоминутног држања манжетне за крвни притисак која је надувана између систолног и дијастолног притиска. Веома осетљиви капилари ће попуцати и развој већег броја екхимозија и петехија указује на велику фрагилност капилара, а она може бити повезана са тромбоцитопатијама. Одређивање времена крварења у ветеринарској медицини је много примењивије посебно код седираних пацијената. После евертирања и учвршћивања букалне слузокоже повојем направи се инцизија (најчешће више њих) на букалној слузокожи близу повеске и дозволи се лагано истицање крви док се не формира кап. На сваких 15 секунди приближимо филтар хартију да упије наведену кап. Када се коагулација

догоди више се неће формирати кап крви. Број капи на филтар хартији се помножи са 15 секунди или другим коришћеним временским распоном. Време крварења је најчешће око 4 минута код паса и мачака. Ови тестови указују на стање крвних судова и примарне, тромбоцитне хемостезе, али не и на коагулацијске поремећаје.

Диференцијална дијагноза васкуларних, тромбоцитних и коагулационих поремећаја хемостазе (Н-нормално, П-патолошки)

Врста поремећаја хемостазе	Време крварења	Број тромбоцита	АПТТ	ПТ	ТТ	Тест капиларне резистенције
Васкуларни	Н или П	Н	Н	Н	Н	Н или П
Тромбоцитни	П	П	Н	Н	Н	П или Н
Коагулациони	Н	Н	П	П	П	Н

Код анализе тромбоцитног статуса испитује се број, морфологија и функционалност тромбоцита. Промене у броју тромбоцита најчешће се виде у рутинској анализи крвне слике. Промене у морфологији тромбоцита виде се на аутоматском бројачу кроз анализу обилка хистограма, а свака промена у облику хистограма и појава „флагова“ указује да морамо направити размаз крви и проанализирати облик и карактеристике тромбоцита. ЕДТА као најчешће коришћен антикоагуланс може довести до агрегације тромбоцита у узорку, до њиховог слепљивања, неравномерне расподеле кроз узорак, многи већи тромбоцити се читавају као мали еритроцити и др., па се може десити и лажна тромбоцитопенија. Споро истицање крви и различити видови венесекције доводе до агрегације тромбоцита у узорку. Због тога свака гранична тромбоцитопенија захтева анализу крвног размаза. Налаз морфолошких промена карактеристичних за мијелодиспластични синдром захтевају даљу анализу морфологије ћелија у костној сржи. Потербно је испитати да ли постоје сфероцити, Дохлеова телашца или сличне морфолошке промене које би указивале на постојање сепсе које изазива тромбоцитопенију. Клинички посматрано мора се искључити и спленомегалија. Испитивање функционалног статуса тромбоцита врши се аутоматизованим путем у специјализованим лабораторијама и укључује методе као што су: агрегометрија преноса светлости, лумиагрегометрија, импедансна агрегометрија на пуној крви и активација тромбоцита која се истражује проточном цитометријом, традиционално се користе за дијагностику хемостатских поремећаја и збрињавање пацијената са тромбоцитним и хемостатским дефектом. Профили агрегације тромбоцита варирају у зависности од активатора који се користи. За неке активаторе (нпр. колаген, арахидонску киселину (АА), ристоцетин и пептиде који активирају рецептор тромбина (ТРАП)), крива ефекта концентрације карактерише акутни нагиб са ефектом прага који доводи до јаке варијације у интензитету агрегација тромбоцита за малу модификацију концентрације активатора. Данас се појављују ПОЦТ апарати за ове намене.

Поремећај коагулацијског система подразумева одређивање времена коагулације тако што се анализатор за тестове коагулације у комбинацији са одговарајућим реагенс

картицама за тестове коагулације користи за клиничко одређивање протромбинског времена (ПТ), активiranог парцијалног тромбoplastинског времена (АПТТ), тромбинског времена (ТТ), фибриногена (ФИБ).

ПТ тест је добар и често коришћен сцреенинг тест екстринзичног пута коагулације крви. Такође се може користити као квантитативни тест екстринзичног пута и уобичајених путева фактора коагулације. Истовремено, може се користити за праћење оралне антикоагулантне терапије. Продужени ПТ може се јавити услед следећих стања: постојање урођених поремећаја фактора коагулације I, II, V, VII и IX дефицијенције (ниже од нормалних 30%), озбиљне болести јетре (инфективне болести јетре паса, генерализована фиброза јетре), жуч, тумор, дефицијенција витамина К или апсорпција, унос биљног материјала који садржи дикумаринска једињења (најосетљиви тест за тровање) или хепарин, дисеминована интраваскуларна коагулација, дуготрајни или вискодозни унос аспирина. Скраћени ПТ може се јавити услед следећих стања: урођени поремећај фактора коагулације као што су фактор В, хиперкоагулабилност, тромбоза, итд.

АПТТ је сензитиван и често коришћен сцреенинг тест за унутрашњи пут коагулације, који се такође може користити као квантитативни тест ендогених фактора коагулације за детекцију серумских фактора осим VII, посебно за тестирање фактора VIII, IX, XI, XII и прекаликреина. Поред тога, АПТТ тест се може користити за праћење ефекта терапије хепарином. Продужено АПТТ време може бити узроковано следећим стањима: 1. Смањење свих фактора коагулације, осим VII и тромбоцита. Ако је ПТ тест нормалан, постоји дефицит неког од фактора коагулације: VII, IX, XI и XII. (мање од 30% нормалне вредности), 2. Наследна хемофилија, тумор слезине, болест јетре, хемолитичка болест новорођених и младих животиња, орални антикоагулантни лекови, хепарин итд., 3. Дисеминована интраваскуларна коагулација, недостатак витамина К, тровање слатким грашком (лечење витамином К1 траје 15 дана). Скраћено АПТТ време може бити узроковано следећим стањима: 1. Хиперкоагулабилно стање као што је дисеминована интраваскуларна коагулација, 2. Стање тромбоза, као код дијабетеса са васкуларним поремећајима, нефротски синдром или тешке опекотине.

ТТ је једноставан тест за праћење коагулације, ефекта антикоагуланса и функције фибрина. Користи се за праћење и лечење високомолекуларним хепарином и фибринолитичима, сцреенинг поремећаја фибриногена и неких озбиљних дефицијенција фибриногена, што је од великог значаја за постављање дијагнозе. Продужено ТТ може настати услед следећих стања: ниска концентрација фибриногена (нижа од 1.0 g/L), поремећај функције фибриногена или прогресивне болести јетре; коагулација изазване инхибиторима тромбина као што су деградациони продукти фибрина, дисеминована интраваскуларна коагулација, хепарин, итд. Скраћено ТТ може настати услед следећих стања: коагулације узорка крви малог степена или са калцијумовим јонима.

Фибриноген је гликопротеин који се углавном синтетише у јетри и делује као супстрат тромбина. Поред тога, ФИБ је такође протеин акутне фазе, као фактор коагулације I и директно је укључен у процес коагулације. Поред тога, такође има више функција, као што је везивање са тромбоцитним гликопротеином IIb или IIIa мембране. Реакција агрегације тромбоцита утиче на вискозност крви и на крају доводи до тромбозе. Стога је повишени ФИБ важан фактор ризика за тромбозу и кардиоваскуларне болести. Повећане вредности фибриногена: а) Физиолошко повећање: дехидратација, интензивна физичка активност и трудноћа; б) Патолошко повећање: 1. Акутна инфламација, у почетку изразито повећане вредности које касније опадају. Хронична инфламација: високи нивои

фибриногена су повезани са присуством хроничне инфламације, 2.Оштећење ткива, повећање унутар 24 часа након оштећења, 3.Специфична повећања, честа код дијабетеса, перитонитиса, епикардитиса, ентеритиса, нефритиса, инфламације дојке, повреде јетре, акутне диспепсије, хране у румену, гастритиса, прелома итд., 4.Болести болести као што су дијабетес, акутни инфаркт миокарда, акутна инфективна болест, болест везивног ткива, акутни нефритис, мултипли мијелом, шок, обимне операције, хипертензија изазвана трудноћом, акутна инфекција, малигнитет и ургентна стања. Снижене вредности фибриногена јављају се у следећим случајевима: 1.Коагулације крви; 2.Болести јетре (тешка или прогресивна болест јетре, хронични хепатитис, цироза), пре и после јаког крварења; 3.Повећано фибринолитичко оштећење или присуство коагулационог ензима у крви. Када се ослободи у циркулацију, фибриноген се уклања и вредност смањује. На фибриноген утичу излив у серозне шупљине, акушерске болести, тешке опекотине, велике хируршке компликације, малигни тумори; 4.Посебне околности уочене код леукемије гранулома ћелија паса, дисеминоване интраваскуларне коагулације, трансфузије неодговарајуће крви. Када су резултати тестирања абнормални треба проверити сваку компоненту тест система, као што су реагенс, узорак, инструмент, итд. и ако је потребно тестирање поновити.

Тест за АЦТ - Користи за праћење ефекта антикоагуланса хепарина, заједно са сродним генеративним тестовима, што има велики значај у праћењу ефеката клиничког лечења хепарином. Тестом се заједно са ПТ такође могу утврдити узроци крварења, било да се ради о прекомерној дози антикоагуланса или смањењу фактора коагулације. Продужен АЦТ може бити узрокован следећим факторима: 1.Смањење Витамин К1 зависних фактора коагулације II, VII, IX и X (нормално мање од 5%) и фактора коагулације I, XI, XII и XIII, 2.Ниска концентрација фибриногена (ниже од 0.5 г/Л), 3.Мали број тромбоцита (нижи од $10 \times 10^9/L$, мало продужено), дисеминована интраваскуларна коагулација и тровање кумаринским родентицидима, 4.Уремија и болести јетре (највећи број фактора коагулације има полуживот краћи од 2 дана, што лако доводи до промена активности код обољења јетре), недостатак витамина Д.

Испитивање фибринолизног система је од великог значаја, а посебно одређивање Д-димера. Д-димер је производ разградње фибрина (или ФДП), мали протеински фрагмент присутан у крви након што се крвни угрушак разгради фибринолизом. Назван је тако јер садржи два Д фрагмента фибринског протеина спојена унакрсном везом, чиме се формира протеински димер. Д-димер ће се повећати кад год постоји активација тромбина, да би се формирао умрежени фибрин и фибринолиза, односно тромбоза и фибринолиза. Типична тромбоемболијска болест је дисеминована интраваскуларна коагулација (ДИК) и Д-димер је често веома висок у овом поремећају. Постоје РОСТ (Point of care) апарати за рутинско одређивање Д-димера. Потребно је добро познавати могуће интерференције и вршити валидацију тестова.

Вискоеластичне методе детекције угрушака се све више користе у ветеринарској медицини за дијагностику ових могућих хемостатских стања: нормокоагулабилна, хиперкоагулабилна, хипокоагулабилна, прекомерна фибринолиза или смањена фибринолиза. Пошто вискоеластични тестови процењују ћелијске и протеинске компоненте хемостазе (тромбоцити и фактори коагулације), као и фибринолизу, они се називају глобални тестови хемостазе. Они имају неке предности у односу на традиционалне тестове згрушавања, који се заснивају на детекцији формирања фибрина у плазми сиромашној тромбоцитима. Ове методе тестирања укључују тромбоците (посебно)

и друге крвне ћелије (леукоците, еритроците), које обезбеђују кључне површине на којима се формира фибрин (иако ендотелна компонента још увек недостаје). Они такође пружају праћење и нумеричке резултате који одражавају динамичку природу формирања и распада фибрина у односу на само крајњу тачку времена до формирања фибрина. Примена ових метода у ветеринарској медицини је све већа.

Одређивање протеина коагулације – Уколико постоје клиничке основе за наследне болести или је потврђена дијагноза продуженог времена коагулације онда се може одредити и концентрација фактора (протеина) коагулације који су функционално повезани са наведеним временима коагулације.

Хиперсензитивне реакције су прекомерне или неадекватне имунолошке реакције које се јављају код животиња као одговор на антигене. Могу бити класификоване у четири основне врсте према механизмима: тип I (анафилактичке или алергијске реакције), тип II (цитотоксичне реакције), тип III (имунокомплексне реакције) и тип IV (одложене реакције).

Узроци хиперсензитивних реакција код животиња укључују различите алергене, инфекције, аутоимуне процесе и реакције на лекове или вакцине. Код типа I, алергени попут полена, хране, бува или прашине изазивају реакцију посредовану IgE антителима, што може довести до атопијског дерматитиса, уртикарије или анафилаксије. Тип II је резултат антитела која се вежу за антигене на ћелијама домаћина, изазивајући цитотоксичност; примери укључују хемолитичку анемију или тромбоцитопенију узроковану лековима. Тип III укључује стварање имунских комплекса који се депонују у ткивима и изазивају инфламацију, што се виђа код васкулитиса, гломерулонефритиса и системског еритемског лупуса. Код типа IV, који је посредован Т-лимфоцитима, инфламација се јавља након излагања антигену, као што су реакције на контактне алергене, туберкулински тест или одређене вакцине.

Лабораторијска дијагностика хиперсензитивних реакција зависи од типа реакције. Код типа I, тестови укључују одређивање укупног и специфичног IgE у серуму, интрадермалне тестове алергије и процену базофилне дегранулације. Еозинофилија у хемограму може указивати на алергијску реакцију. Код типа II, анализа укључује Coombs-ов тест за детекцију антитела на еритроцитима и тестове директне имунофлуоресценције. Тип III захтева идентификацију циркулишућих имунских комплекса, хистолошку анализу захваћених ткива (нпр. имунофлуоресценција за депоноване имунокомплексе) и мерење комплемента. Код типа IV, користи се тест коже (patch тест), хистопатолошки преглед ткива са инфилтрацијом лимфоцита и макрофага, као и процена инфламаторних цитокина (нпр. интерферон-гама). Разумевање узрока и коришћење адекватних дијагностичких метода кључно је за препознавање и управљање хиперсензитивним реакцијама код животиња, чиме се омогућава правовремено лечење и превенција даљих компликација.

Холестерол је липидна супстанца која игра кључну улогу у физиологији организма свих кичмењака, јер је есенцијална компонента ћелијских мембрана, прекурсор стероидхормона, жучних киселина и витамина Д, што га чини неопходним за бројне метаболичке и структурне функције. Он се може унети храном, првенствено из животињских производа, јер биљна храна не садржи холестерол, или се може синтетисати ендегено, углавном у јетри, али и у цревима, кожи и надбубрежним жлездама. Највећи део холестерола организам производи сам путем сложеног процеса синтезе који се одвија у

цитоплазми и ендоплазматском ретикулуму ћелија, а кључни ензим у овом процесу је ХМГ-ЦоА редуктаза, који је подложен строгој регулацији према потребама организма. Пошто је хидрофобан, холестерол се у крви преноси у облику липопротеинских комплекса, укључујући хиломикроне, који преносе холестерол и триглицериде из црева до јетре; липопротеине врло ниске густине (ВЛДЛ), који преносе холестерол из јетре до ткива; липопротеине ниске густине (ЛДЛ), који се називају „лош холестерол“ јер транспортују холестерол ка периферним ткивима; и липопротеине високе густине (ХДЛ), познате као „добар холестерол“, који уклањају вишак холестерола из ткива и преносе га назад у јетру ради рециклаже или елиминације. Холестерол има кључне функције у организму, укључујући структурну улогу као компонента ћелијских мембрана, где доприноси њиховој флуидности и стабилности, као и функцију прекурсора за синтезу стероидних хормона (глюкокортикоида, минералокортикоида и полних хормона попут естрогена, тестостерона и прогестерона), жучних киселина које учествују у емулзификацији масти у цревима, и витамина Д који настаје од холестерола под утицајем УВ зрачења. Осим тога, холестерол има улогу у имунолошким процесима, укључујући регулацију упалних реакција. Регулација нивоа холестерола у организму остварује се на више начина, укључујући инхибицију ХМГ-ЦоА редуктазе, кључног ензима у синтези холестерола, повратном спрегом када је ниво холестерола висок, затим регулацију рецептора за ЛДЛ у периферним ткивима и јетри, који контролишу унос ЛДЛ-холестерола, као и елиминацију вишка холестерола жучним киселинама и слободним холестеролом преко жучи. Поремећаји у метаболизму холестерола, као што су хиперхолестеролемија, хипохолестеролемија и дислипидемије, могу настати услед генетских фактора, неправилне исхране, обољења јетре, ендокриних поремећаја или упалних стања, што наглашава значај холестерола у одржавању нормалних физиолошких процеса и здравља организма. Хиперхолестеролемија код животиња настаје као резултат различитих фактора који утичу на метаболизам липида и ниво холестерола у крви. Заједнички узроци укључују ендокрине поремећаје попут хипотиреозе, која је чест узрок код паса, али се може јавити и код других врста, где смањена функција штитасте жлезде успорава метаболизам и повећава ниво липида у крви. Хиперадреналокортицизам (Кушингова болест) такође изазива повећање синтезе холестерола и триглицерида због вишка кортизола, док дијабетес мелитус доводи до поремећаја метаболизма масти, што резултира повећањем холестерола. Хепатобилијарне болести, као што су холестаза (застој жучи) и друге хепатопатије, ометају нормалну разградњу и елиминацију холестерола, узрокујући његово накопљање у крви. Исхрана богата мастима и угљеним хидратима представља додатни узрок, посебно код домаћих и узгајаних животиња, где небалансирана исхрана с високим уносом масти и уља значајно доприноси хиперхолестеролемији. Генетска предиспозиција игра важну улогу код одређених врста и раса, попут шетлендских овчара и неких линија свиња, које су познате по већем ризику од повишеног холестерола. Хронични стрес, партус и физичка неактивност узрокују хормоналне промене и повећање телесне масе, што додатно нарушава метаболизам липида. Панкреатитис, било акутан или хроничан, може изазвати дислипидемију, укључујући повишење холестерола, док метаболички поремећаји, као што је кетоза, додатно доприносе овом стању. Гојазност, као значајан фактор ризика, повећава синтезу и складиштење масти, чиме се повећава ниво холестерола у крви, док хроничне болести и инфламаторни процеси мењају метаболизам липида, што такође доприноси хиперхолестеролемији. Сви ови узроци могу деловати заједно и синергијски, зависно од

врсте животиње, њених генетских предиспозиција и окружења, па је правовремено препознавање и лечење основног узрока кључно за контролу нивоа холестерола. Сматра се да налаз изражене хиперхолестеролемије наше без других промена у лабораторијским параметрима код паса указује да хипотиреоидизам.

Хипохолестеролемија, или снижени ниво холестерола у крви, код различитих животињских врста има заједничке узроке који укључују поремећаје апсорпције масти, обољења јетре, хипопротеинемију, хроничне инфекције, хормоналне поремећаје, и генетске факторе. Поремећаји у апсорпцији масти често настају због проблема у гастроинтестиналном тракту, попут хроничних дијареја, паразитоза или поремећаја ферментације код преживара, што смањује унос и метаболизам липида. Обољења јетре, као што су тешка оштећења јетреног ткива, цироза или инсуфицијенција јетре, доводе до смањене синтезе холестерола, будући да јетра игра кључну улогу у овом процесу. Хипопротеинемија, стања која прате губитак протеина кроз бубреге (нпр. нефротски синдром) или црева (ентеропатије), често су праћена и сниженим холестеролом, јер липопротеини, који преносе холестерол у крви, зависе од синтезе протеина. Хроничне инфекције и упале, као што су бактеријске, вирусне или паразитске болести, могу смањити концентрацију холестерола услед повећане разградње липида и редистрибуције енергије на имунолошке процесе. Хормонални поремећаји, као што је хипертиреоза (прекомерна функција штитасте жлезде), убрзавају метаболизам и смањују концентрацију холестерола, што је посебно изражено код коња и мачака. Генетске аномалије, иако ретке, могу довести до урођених проблема у метаболизму липида, што резултира хипохолестеролемијом код одређених врста. Сви ови фактори делују тако што ометају нормалан унос, синтезу, транспорт или складиштење холестерола, чиме се значајно нарушава липидни баланс у организму животиња. Правовремена дијагностика и разумевање основног узрока кључни су за правилно управљање и третман овог стања.

Хлориди (Cl^-) - Повећане и снижене вредности хлорида (Cl^-) код животиња резултат су поремећаја у равнотежи електролита, течности и киселинско-базног статуса, при чему различити узроци могу допринети овим одступањима.

Хиперхлоремија се често јавља као последица метаболичке ацидозе, при којој долази до задржавања хлорида ради компензације смањења нивоа бикарбоната у крви. Прекомеран унос хлорида може настати услед конзумације хране или воде богате хлоридима, као и интравенске примене раствора који садрже натријум-хлорид. Хиперхлоремија се такође може развити код дехидратације, где смањење запремине течности концентрира хлориде у плазми. Смањена функција бубрега може довести до накупљања хлорида услед смањеног излучивања овог јона. Поред тога, пролонговано повраћање садржаја црева (посебно код губитка бикарбоната из дигестивног тракта) и неки ендокрини поремећаји, као што је хипералдостеронизам, могу изазвати хиперхлоремију.

Хипохлоремија се често јавља код метаболичке алкалозе, где долази до повећаног губитка хлорида путем повраћања или кроз урин. Ово је често повезано са стањем пролонгованог повраћања желудачног садржаја богатог хлороводоничном киселином. Губитак хлорида може се јавити и код полиурије, посебно код употребе диуретика који појачавају излучивање електролита. Такође, смањен унос хлорида кроз исхрану или продужени периоди гладовања могу допринети његовом паду у плазми. Хронични проливи или гастроинтестиналне болести које утичу на апсорпцију могу изазвати

хипохлоремију. Поремећаји бубрежне функције, као што су тубуларне дисфункције, могу узроковати неадекватну реапсорпцију хлорида, док неки хормонски поремећаји, попут хипоадренокортицизма (Аддисонова болест), могу смањити реапсорпцију натријума и хлорида.

Промене у концентрацији хлорида утичу на осмотску равнотежу, ацидобазни статус и функцију ћелија, што може значајно угрозити здравље животиња. Због тога као даљи дијагностички поступак потребно је одредити концентрацију натријума и испитати ацидо-базни статус јединке.

Хормони тиреоидне жлезде - Хормони штитасте жлезде, пре свега тироксин (Т4) и тријодтиронин (Т3), играју кључну улогу у регулацији метаболизма, термогенезе, раста, развоја и функције многих органа код животиња. Њихов дијагностички значај лежи у идентификацији поремећаја функције штитасте жлезде, као што су хипотиреоидизам и хипертиреоидизам, који се често јављају код различитих животињских врста. Тироксин (Т4), примарни хормон штитасте жлезде, у циркулацији постоји у слободном (фТ4) и везаном облику. Код паса је хипотиреоидизам најчешћи поремећај, а карактерише га снижена концентрација укупног и слободног Т4, док је код мачака хипертиреоидизам чешћи и манифестује се повишеним нивоима Т4. Тријодтиронин (Т3) је биолошки активнији облик хормона и настаје периферном дејодацијом Т4. Његова концентрација се користи као додатни дијагностички маркер, али је мање поуздана од Т4 због већег утицаја других фактора на његов ниво. Код дијагностике болести штитасте жлезде често се користи и ТСХ (тироидни стимулирајући хормон), који омогућава процену функције жлезде. Повишен ниво ТСХ уз низак Т4 указује на примарни хипотиреоидизам, док снижене вредности ТСХ и повишени Т4 указују на хипертиреоидизам. Поред директног мерења хормона, важни су и тестови функционалности штитасте жлезде, попут ТСХ стимулационог теста и тестова супресије са Т3, који омогућавају диференцијацију између примарних и секундарних поремећаја. Т3 има мању дијагностичку вредност од Т4. Укупни Т4 је добар у скрининг тестирању јер је веома сензитиван.

Хипертиреоидизам је стање које се карактерише прекомерном производњом хормона штитасте жлезде, најчешће тироксина (Т4) и тријодтиронина (Т3). Главни узроци хипертиреоидизма код животиња су различити. Аденоми штитасте жлезде: Бенигни тумори штитасте жлезде најчешће су узрок хипертиреоидизма код старијих мачака. Мултинодуларна хиперплазија: Вишеструки чворови у штитастој жлезди могу довести до повећане производње хормона. Јодни дисбаланс: Прекомеран унос јода у исхрани може стимулисати штитасту жлезду на повећану активност. Ектопично ткиво штитасте жлезде: Ретко, ткиво штитасте жлезде смештено ван жлезде може постати хиперактивно. Неоплазије: Малигни тумори штитасте жлезде, иако ређи, могу изазвати хипертиреоидизам код неких животињских врста.

Хипотиреоидизам је стање смањене производње хормона штитасте жлезде, а најчешће се јавља код паса. Главни узроци хипотиреоидизма се могу класификовати на неколико група. Аутоимуни тироидитис: Имунолошки поремећај у којем долази до напада имуног система на штитасту жлезду, што доводи до њеног оштећења и смањења функције. Ово је најчешћи узрок хипотиреоидизма код паса. Идиопатска атрофија штитасте жлезде: Постепено смањење величине жлезде без познатог узрока, што води смањењу хормонске производње. Јодни дефицит: Недостатак јода у исхрани може ометати синтезу хормона штитасте жлезде. Конгенитални поремећаји: Урођени недостаци у развоју штитасте

жлезде или ензима потребних за синтезу хормона. Лекови: Одређени лекови, попут глукокортикоида или сулфонамида, могу инхибирати функцију штитасте жлезде. Секундарни или терцијарни хипотиреоидизам: Недостатак стимулације жлезде услед поремећаја у хипофизи (ТСХ) или хипоталамусу (ТРХ).

Лабораторијске биохемијске и хематолошке последице хипер- и хипотиреоидизма Поремећаји функције штитасте жлезде, попут хипер- и хипотиреоидизма, узрокују различите биохемијске и хематолошке промене које могу помоћи у њиховој дијагностици и праћењу.

Хипертиреоидизам, који је најчешћи код старијих мачака, доводи до убрзаног метаболизма и резултира следећим лабораторијским променама:

Повећани нивои ензима јетре (АЛТ, АСТ, АЛП) услед повећаног метаболизма и стреса на јетру.

Хипергликемија, која може настати због повећаног метаболизма глукозе.

Снижен ниво холестерола и триглицерида, јер убрзани метаболизам доводи до повећане разградње липида.

Блага полицитемија, која се јавља као последица повећане потрошње кисеоника и стимулације еритропоезе.

Смањени ТСХ, док су Т4 и/или слободни Т4 (фТ4) повишени, што је карактеристично за хипертиреоидизам.

Хипотиреоидизам, који је најчешћи код паса, изазива успоравање метаболизма и карактерише се следећим променама:

Хиперхолестеролемија и хипертриглицеридемија, које настају због успорене разградње липида и смањене активности липопротеинске липазе.

Блага нормоцитна нормохромна анемија, која је последица смањене стимулације еритропоезе.

Хипонатремија, која се може јавити због смањене функције надбубрежне жлезде код неких случајева аутоимуних болести.

Повишен ниво креатин киназе (ЦК), који је повезан са миопатијама које прате хипотиреоидизам.

Низак ниво Т4 и фТ4, уз повишен ТСХ, што указује на примарни хипотиреоидизам.

Еутиреоидни *sick* синдром (ЕСС) је стање у којем долази до промена у нивоу хормона штитасте жлезде код системских болести или стресних стања, без примарне дисфункције саме штитасте жлезде. Ово стање представља реакцију организма на стрес, болест или трауму и не указује на прави поремећај функције штитасте жлезде. Карактеристике овог синдрома укључују снижен ниво тироксина (Т4), што је најчешћа промена, посебно код тешких болести, док слободни Т4 (фТ4) може остати нормалан или бити благо снижен. Такође, снижен ниво тријодтиронина (Т3) је основна карактеристика овог синдрома, позната као "low T3 syndrome", при чему долази до смањене дејодације Т4 у Т3, док се повишен ниво реверзног Т3 (рТ3) јавља због смањене конверзије у активни Т3, при чему реверзни Т3 нема биолошку активност. У већини случајева ТСХ је нормалан, али код тежих болести може бити благо снижен. Узроци еутиреоидног *sick* синдрома укључују тешке системске болести, попут сепсе, срчане, реналне и хепатичне инсуфицијенције, као и трауме, хронични стрес и инфламацију, што је чест узрок код хроничних болести. Синдром се може јавити и у постоперативном периоду услед великих операција и анестезије, као и код енергетског дефицита узрокованог анорексијом,

гладовањем или озбиљним губитком тежине. ЕСС се обично не третира директно јер није примарна болест штитасте жлезде, а терапија је усмерена на основно стање које узрокује промене у хормонима. Примена хормона штитасте жлезде није препоручљива у овом синдрому јер може нарушити природну хомеостазу организма.

Хормони надбубрега - Хормони надбубрежне жлезде, укључујући глюкокортикоиде (кортизол), минералокортикоиде (алдостерон) и катехолаmine (адреналин и норадреналин), играју кључну улогу у регулацији метаболизма, равнотеже електролита, одговору на стрес и одржавању крвног притиска. Њихов дијагностички значај огледа се у препознавању поремећаја као што су хиперадренокортицизам (Кушингов синдром) и хипоадренокортицизам (Адисонова болест).

Хиперадренокортицизам (Кушингов синдром) настаје услед прекомерне производње кортизола и може бити узрокован:

Аденомом хипофизе: Најчешћи узрок код паса, који доводи до повећане секреције адренокортикотропног хормона (АЦТХ).

Аденомом или карциномом надбубрежне жлезде: Директно повећава секрецију кортизола.

Егзогеним кортикостероидима: Продужена примена глюкокортикоида може изазвати јатрогени Кушингов синдром.

Лабораторијске последице хиперадренокортицизма укључују следеће лабораторијске налазе који се могу рутински дијагностиковани и измерити:

Леукоцитозу са стрес леукограмом: Лимфопенија, еозинопенија, моноцитоза и неутрофилија.

Повишене нивое алкалне фосфатазе (АЛП): Карактеристичан налаз код паса.

Хипергликемију: Због антагонизма кортизола према инсулину.

Хиперхолестеролемију и хипертриглицеридемију: Због поремећаја метаболизма липида.

Различите електролитске дисбалансе, попут благе хипокалемије.

Хипоадренокортицизам (Адисонова болест) настаје услед инсуфицијенције надбубрежне жлезде и може бити узрокован:

Аутоимуним процесима: Најчешћи узрок примарног Адисоновог обољења.

Лековима: Одређени лекови могу изазвати супресију надбубрежне жлезде.

Секундарним узроцима: Поремећаји хипофизе или смањена продукција АЦТХ.

Лабораторијске последице хипоадренокортицизма укључују следеће лабораторијске налазе који се могу рутински дијагностиковани и измерити:

Хипонатремију и хиперкалемију: Због недостатка алдостерона и поремећаја у равнотежи електролита.

Азотемију: Због смањене перфузије бубрега услед хипотензије.

Хипогликемију: Услед недостатка глюкокортикоида.

Анемију: Обично блага и нормоцитна нормохромна.

Еозинофилију и лимфоцитозу: Супротно стрес леукограму код хиперадренокортицизма.

Дијагностика ових поремећаја укључује анализе хормона као што су АЦТХ, кортизол и алдостерон, АЦТХ стимулациони тест, тест супресије дексаметазоном, као и

детаљну интерпретацију биохемијских и хематолошких параметара. Правовремена дијагноза је кључна за адекватан третман и прогнозу ових стања.

Ц-пептид је фрагмент протеина који настаје током синтезе инсулина у бета ћелијама панкреаса. Када се инсулин производи као проинсулин, он се раздваја у два дела: активни инсулин и Ц-пептид. Овај процес омогућава да инсулин постане функционалан, док Ц-пептид остаје у крви у приближно истим количинама као и инсулин, али нема физиолошку активност. Дијагностички значај Ц-пептида код животиња лежи у његовој способности да одражава ниво лучења инсулина, јер се Ц-пептид излучује у крви у истим количинама као инсулин, али за разлику од инсулина, Ц-пептид није под утицајем инсулинског метаболизма у јетри. Мерење Ц-пептида може пружити прецизну слику о панкреасној функцији и помоћи у диференцијацији између типова дијабетеса. У случајевима хиперинсулинемије и инсулинске резистенције, повећање Ц-пептида у крви, у комбинацији с повишеним нивоима инсулина, може указивати на инсулинску резистенцију, јер панкреас лучи више инсулина да би одржао нормалне нивое глукозе. Код животиња са дијабетесом типа 1, где је дошло до уништавања бета ћелија панкреаса, производња инсулина и Ц-пептида је смањена, па мерење Ц-пептида може помоћи у разликовању дијабетеса типа 1 од типа 2. У дијабетесу типа 1 нивои Ц-пептида и инсулина обично буду врло ниски, док код дијабетеса типа 2 могу бити нормални или повишени. Такође, мерење Ц-пептида помаже у процени функције панкреаса код животиња које не показују класичне симптоме дијабетеса, омогућавајући прецизније дијагнозе и ефикасније лечење животиња са поремећајима у производњи инсулина.

13.ЛИТЕРАТУРА

1. Agina, O. A. (2017). Haematology and clinical biochemistry findings associated with equine diseases-a review. *Notulae Scientia Biologicae*, 9(1), 1-21.
2. Allison, R. W., & Meinkoth, J. H. (2007). Hematology without the numbers: in-clinic blood film evaluation. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37(2), 245-266.
3. Arnold, J. E., Camus, M. S., Freeman, K. P., Giori, L., Hooijberg, E. H., Jeffery, U., ... & Cook, J. R. (2019). ASVCP guidelines: principles of quality assurance and standards for veterinary clinical pathology (version 3.0): developed by the American Society for Veterinary Clinical Pathology's (ASVCP) Quality Assurance and Laboratory Standards (QALS) Committee.
4. Aydin, S., Aksoy, A., Aydin, S., Kalayci, M., Yilmaz, M., Kuloglu, T., ... & Catak, Z. (2014). Today's and yesterday's of pathophysiology: biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition*, 30(1), 1-9.
5. Bell, R., Harr, K., Rishniw, M., & Pion, P. (2014). Survey of point-of-care instrumentation, analysis, and quality assurance in veterinary practice. *Veterinary Clinical Pathology*, 43(2), 185-192.
6. Bhardwaj, H., Kaur, T. P., & Bhardwaj, R. (2020). Point of Care Testing (POCT) in Clinical Veterinary Biochemistry. *INDIAN FARMER*, 985.
7. Braun, J. P., Bourguès-Abella, N., Geffré, A., Concordet, D., & Trumel, C. (2015). The preanalytic phase in veterinary clinical pathology. *Veterinary Clinical Pathology*, 44(1), 8-25.
8. Braun, J. P., Trumel, C., & Bézille, P. (2010). Clinical biochemistry in sheep: A selected review. *Small Ruminant Research*, 92(1-3), 10-18.
9. Capitelli, R., & Crosta, L. (2013). Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 16(1), 71-120.
10. Cincović M. (2016). Metabolički stres krava. Monografija. Poljoprivredni fakultet Novi Sad – Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad
11. Cook, A. M., Moritz, A., Freeman, K. P., & Bauer, N. (2016). Quality requirements for veterinary hematology analyzers in small animals—a survey about veterinary experts' requirements and objective evaluation of analyzer performance based on a meta-analysis of method validation studies: bench top hematology analyzer. *Veterinary Clinical Pathology*, 45(3), 466-476.
12. Douglas, T. A., & Eckersall, P. D. (1985). Clinical biochemistry in veterinary practice: results of a survey by questionnaire. *Journal of small animal practice*, 26(6), 363-367.
13. Duncan, J. R., Prasse, K. W., & Mahaffey, E. A. (1994). *Veterinary laboratory medicine: clinical pathology* (No. Ed. 3). Iowa State University Press.
14. Facklam, N. R., & Kociba, G. J. (1985). Cytochemical characterization of leukemic cells from 20 dogs. *Veterinary Pathology*, 22(4), 363-369.
15. Fairbrother, A. (2020). Clinical biochemistry. In *Nondestructive Biomarkers in Vertebrates* (pp. 63-89). CRC Press.
16. Farr, A. J., & Freeman, K. P. (2008). Quality control validation, application of sigma metrics, and performance comparison between two biochemistry analyzers in a commercial veterinary laboratory. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 20(5), 536-544.
17. Farver, T. B. (1997). Concepts of normality in clinical biochemistry. In *Clinical biochemistry of domestic animals* (pp. 1-19). Academic Press.
18. Faye, B., & Bengoumi, M. (2018). Camel clinical biochemistry and hematology (pp. 173-216). Cham (Switzerland): Springer.
19. Feldman, E. C., Nelson, R. W., Reusch, C., & Scott-Moncrieff, J. C. (2014). *Canine and feline endocrinology-e-book*. Elsevier health sciences.
20. Flatland, B., & Vap, L. M. (2012). Quality management recommendations for automated and manual in-house hematology of domestic animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 42(1), 11-22.

21. Flatland, B., Camus, M. S., & Baral, R. M. (2018). Analytical quality goals—a review. *Veterinary Clinical Pathology*, 47(4), 527-538.
22. Freeman, K. P., & Gruenewaldt, J. (1999). Quality control validation in veterinary laboratories. *Veterinary clinical pathology*, 28(4), 150-155.
23. Freeman, K. P., Bauer, N., Jensen, A. L., & Thoresen, S. (2006). Introduction to ISO 15189: a blueprint for quality systems in veterinary laboratories. *Veterinary clinical pathology*, 35(2), 157-171.
24. Gaunt, S. D., Prescott-Mathews, J. S., King, W. W., & Scholl, D. T. (1995). Clinical hematology practices at veterinary teaching hospitals and private diagnostic laboratories. *Veterinary Clinical Pathology*, 24(2), 64-67.
25. Greco, D. S., & Davidson, A. P. (Eds.). (2017). *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion: Small Animal Endocrinology and Reproduction*. John Wiley & Sons.
26. Gunn-Christie, R. G., Flatland, B., Friedrichs, K. R., Szladovits, B., Harr, K. E., Ruotsalo, K., ... & Freeman, K. P. (2012). ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical, analytical, and postanalytical factors for urinalysis, cytology, and clinical chemistry in veterinary laboratories. *Veterinary clinical pathology*, 41(1), 18-26.
27. Harvey, J. W. (2011). *Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas*. Elsevier Health Sciences.
28. Harvey, J. W., Stevens, A., Lowe, J. S., & Scott, I. (2012). *Veterinary hematology* (pp. 234-259). St. Louis: WB Saunders.
29. Humann-Ziehank, E., & Ganter, M. (2012). Pre-analytical factors affecting the results of laboratory blood analyses in farm animal veterinary diagnostics. *Animal*, 6(7), 1115-1123.
30. Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (Eds.). (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic press.
31. Kerr, M. G. (2008). *Veterinary laboratory medicine: Clinical biochemistry and haematology*. John Wiley & Sons.
32. Kil, D. Y., & Swanson, K. S. (2010). Endocrinology of obesity. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 40(2), 205-219.
33. Latimer, K. S. (Ed.). (2011). *Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology*. John Wiley & Sons.
34. Lester, S., Harr, K. E., Rishniw, M., & Pion, P. (2013). Current quality assurance concepts and considerations for quality control of in-clinic biochemistry testing. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 242(2), 182-192.
35. Lumeij, J. T. (1997). Avian clinical biochemistry. In *Clinical biochemistry of domestic animals* (pp. 857-883). Academic Press.
36. McLaughlin, R. M., & Fish, R. E. (1994). Clinical biochemistry and hematology. In *The biology of the laboratory rabbit* (pp. 111-127). Academic Press.
37. Messick, J. B. (2012). Hematology, An Issue of *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* (Vol. 42, No. 1). Elsevier Health Sciences.
38. Michael, H. T., Nabity, M. B., Couto, C. G., Moritz, A., Harvey, J. W., DeNicola, D. B., & Hammond, J. M. (2022). Improving quality control for in-clinic hematology analyzers: Common myths and opportunities. *Veterinary Clinical Pathology*, 51(3), 302.
39. Nardini, G., Leopardi, S., & Bielli, M. (2013). Clinical hematology in reptilian species. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, 16(1), 1-30.
40. Niessen, S. J., Bjornvad, C., Church, D. B., Davison, L., Esteban-Saltiveri, D., Fleeman, L. M., ... & Thuroczy, J. (2022). Agreeing Language in Veterinary Endocrinology (ALIVE): Diabetes mellitus—a modified Delphi-method-based system to create consensus disease definitions. *The Veterinary Journal*, 289, 105910.
41. Pilny, A. A. (2008). Clinical hematology of rodent species. *Veterinary clinics of North America: exotic animal practice*, 11(3), 523-533.

42. Pineda, M. H., & Dooley, M. P. (2003). McDonald's veterinary endocrinology and reproduction (No. Ed. 5). Iowa state press.
43. Ramos-Vara, J. A., Kiupel, M., Baszler, T., Bliven, L., Brodersen, B., Chelack, B., ... & Valli, V. E. (2008). Suggested guidelines for immunohistochemical techniques in veterinary diagnostic laboratories. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 20(4), 393-413.
44. Rand, J., Behrend, E., Gunn-Moore, D., & Campbell-Ward, M. (Eds.). (2013). *Clinical endocrinology of companion animals*. John Wiley & Sons.
45. Raskin, R. E., Santangelo, K., & Polak, K. (2022). Cytochemical staining and immunocytochemistry. *Schalm's Veterinary Hematology*, 478-499.
46. Reagan, W. J., Rovira, A. R. I., & DeNicola, D. B. (2019). *Veterinary hematology: atlas of common domestic and non-domestic species*. John Wiley & Sons.
47. Rijnberk, A., & Kooistra, H. S. (Eds.). (2010). *Clinical endocrinology of dogs and cats: an illustrated text*. Schlütersche.
48. Rishniw, M., Pion, P. D., & Maher, T. (2012). The quality of veterinary in-clinic and reference laboratory biochemical testing. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(1), 92-109.
49. Sacchini, F., & Freeman, K. P. (2008). Quality documentation challenges for veterinary clinical pathology laboratories. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 20(3), 266-273.
50. Sharkey, L. C., & Wellman, M. L. (2011). Diagnostic cytology in veterinary medicine: a comparative and evidence-based approach. *Clinics in laboratory medicine*, 31(1), 1-19.
51. Sharkey, L., Wellman, M., & Christopher, M. M. (2006). Guidelines for resident training in veterinary clinical pathology. II. Hematology. *Veterinary clinical pathology*, 35(4), 382-387.
52. Squires, E. J. (2024). *Applied animal endocrinology*. GB: Cabi.
53. Stockham, S. L., & Scott, M. A. (2013). *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. John Wiley & Sons.
54. Svennersten-Sjaunja, K., & Olsson, K. (2005). Endocrinology of milk production. *Domestic animal endocrinology*, 29(2), 241-258.
55. Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (Eds.). (2012). *Veterinary hematology and clinical chemistry*. John Wiley & Sons.
56. Vap, L. M., Harr, K. E., Arnold, J. E., Freeman, K. P., Getzy, K., Lester, S., & Friedrichs, K. R. (2012). ASVCP quality assurance guidelines: control of preanalytical and analytical factors for hematology for mammalian and nonmammalian species, hemostasis, and crossmatching in veterinary laboratories. *Veterinary Clinical Pathology*, 41(1), 8-17.
57. Verstegen-Onclin, K., & Verstegen, J. (2008). Endocrinology of pregnancy in the dog: a review. *Theriogenology*, 70(3), 291-299.
58. Voigt, G. L., & Swist, S. L. (2011). *Hematology techniques and concepts for veterinary technicians*. John Wiley & Sons.
59. Walton, R. M., Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2021). *Equine Hematology, Cytology, and Clinical Chemistry*.
60. Washington, I. M., & Van Hoosier, G. (2012). Clinical biochemistry and hematology. In *The laboratory rabbit, guinea pig, hamster, and other rodents* (pp. 57-116). Academic Press.