

1. fejezet

Általános laboratóriumi ismeretek

Írta Gaál Tibor és Ribiczeyné Sz. Piroska,
Albert Mihály közreműködésével

A laboratóriumi vizsgálatokról

A LABORATÓRIUMI VIZSGÁLATOK CÉLJA

Az állatorvosi (orvosi) diagnosztika sokrétű, összetett tevékenység, ami a „klasszikus”, fizikális vizsgálatok mellett nem nélkülözheti a különböző kiegészítő vizsgálatokat.

A kiegészítő vizsgálatok között előkelő helyet foglalnak el a laboratóriumi vizsgálatok, amelyek iránt az igény egyre nő, miközben a gyakorló klinikusok közül csak kevesen „laboratóriumi” beállítottságúak, pipettát, mikroszkópot nem szívesen vesznek a kezükbe. Sajátos ellentmondás alakult ki: miközben a laboratóriumi diagnosztika egyre fejlettebb eljárásokat kínál, és azok eredményét igénylik is a klinikusok, a kivitelezést mégis szívesebben várják az ebben jártas állatorvos kollégák szűkebb körétől, vagy az orvosi (kórházi) laboratóriumoktól. Ennek az egyértelműen felhasználói szemléletnek a hátrányos következményeitől szeretnénk megóvni minden olvasót:

Aki sohasem végez laboratóriumi vizsgálatokat, az egyre távolodik azok lényegétől. Nemcsak elfelejti a vizsgálatok elvégzésének módját, de a kapott leleteket sem lesz képes értékelni. A laboratóriumi diagnosztikával kapcsolatban is érvényes: mindenkinek szüksége van saját élményre, tapasztalatra ahhoz, hogy megérthesse az adott vizsgálathoz kapcsolódó ismereteket.

Minél távolabb áll a laboratóriumi tevékenység (és annak eredménye) a klinikustól, annál nagyobb lesz a függése tőle. A klinikus előbb-utóbb szégyellni valónak tartja, ha a legegyszerűbb klinikai diagnózist nem támasztja alá tucatnyi laboratóriumi, röntgen-, ultrahangos vagy komputertomográfiás lelet. Kialakulhat az a nemkívánatos helyzet, amikor a gyorsabb és pontosabb diagnózis reményében hamarabb küldünk vizelet- vagy vérmintát a laboratóriumba (vagy a beteget röntgenre, ultrahangos vizsgálatra), mint hogy megvizsgálják a beteget. Szélsőséges esetben nem a laboratóriumi (röntgen-, ultrahangos stb.) leletet tekintjük a klinikai kép mellett kiegészítő adatnak, hanem fordítva.

További érvek is szólnak amellett, hogy diagnosztikai munkánk tökéletesítésére magunknak is kell bizonyos szintű laboratóriumi tevékenységet folytatni.

Magyarországon kevés az *önálló állatorvosi laboratóriumok* száma, és az ország különböző részein nem is egyformán elérhetők. A szaklaboratóriumi kínálat tehát nem mindenhol és nem minden időpontban vehető igénybe. Ezért nem nélkülözhetjük a gyors eredményt adó *helyszíni laboratóriumi*

vizsgálatokat, hiszen diagnosztikai tevékenységünk egyébként csorbát szenved, és nem tudunk teljes értékű szakmai szolgáltatást nyújtani. Ráadásul a versenyhelyzetben lemaradunk azoktól, akik felismerték a laboratóriumi vizsgálatok jelentőségét, és saját körülményeik között alkalmazzák is azokat.

A diagnosztikai munkában döntő szempont a gyorsaság. Az állat vizsgálata során a saját laboratóriumunkban azonnal elvégzett szemikvantitatív próba sokszor hasznosabb eredményt nyújt, mint fél nappal később egy szaklaboratórium precíz eredménye.

A szakmai érvek mellett anyagi megfontolásokat is ajánlatos számításba venni: a szaklaboratóriumok tevékenysége általában kevesebbe kerül, mint ha saját magunk teremtenénk meg minden laboratóriumi vizsgálat elvégzésének feltételeit, de nagyon sok esetben (pl. a gyakran igényelt vizeletvizsgálatok során) olcsóbban juthatunk saját vizsgálatokkal ugyanahhoz az eredményhez.

Könyvünkkel éppen azt akarjuk elérni, hogy a *szükséges mértékben* megismertessük az olvasót (egyetemi hallgatót, klinikai munkát végző állatorvost) a laboratóriumi vizsgálatokkal, részletesen bemutassuk közülük azokat, amelyeket bárki elvégezhet, és utaljunk azokra, amelyeket helyesebb szaklaboratóriumban végeztetni. Fontos célunk az is, hogy segítséget adjunk a leletet fogadó klinikusnak a laboratóriumi eredmények értékeléséhez. Tartsuk szem előtt, hogy a végső diagnózis kimondása mindig a beteget vizsgáló klinikus feladata! Ugyanakkor ehhez a laboratóriumi diagnosztikai és a többi kiegészítő vizsgálatokkal értékes segítséget nyújthatunk.

A LABORATÓRIUMI VIZSGÁLATOK INDOKAI

A laboratóriumi vizsgálatokat általában *beteg állatokból* nyert mintákból végezzük/kérjük, de alkalmanként egészséges állatok esetében is szükség van ilyen meghatározásokra. A laboratóriumi vizsgálatok legfontosabb indokai a következők:

Klinikailag beteg állatból vett minták vizsgálata. A leggyakrabban ez az indoka a laboratóriumi analíziseknek. A kapott lelet megerősítheti vagy kizárhatja klinikai diagnózisunkat, s ezáltal az elkülönítő kórjelzéshez nyújt fontos adatokat. A laboratóriumi lelet gyakran jó összhangban van a klinikai tünetekkel; ekkor – bár nem törvényszerűen – abból a betegség *súlyosságára* is következtethetünk. Végül a beteg állatból ismételt vett minták laboratóriumi vizsgálataival a betegség *nyomon követésére* is lehetőség nyílik.

Egészséges állat egyedi vizsgálata. Alkalmanként szükség lehet arra, hogy a klinikai egészségvizsgálaton kívül laboratóriumi vizsgálatokat is igénybe vegyünk (pl. leukosistest elvégzése tenyészmacskán, az edzettségi állapot, a versenyre való alkalmasság vizsgálata sportlovon, kiállítás, szállítás, adásvétel előtti ellenőrzés bármely állatfajon).

Egészséges állomány egészének szűrővizsgálata. Legtöbbször a nagyhozamú tejelő tehenek esetén vesszük igénybe – az állományt reprezentatíven képviselő egyedszámú állaton – mint ún. metabolikus profilvizsgálatot a szub-klinikai anyagforgalmi zavarok kimutatására.

Egészséges állomány egy részének vizsgálata kritikus biológiai időszakban. Az igénybevételtől, a terheléstől, az életkortól, a tartási-takarmányozási körülményektől függően az élet egyes szakaszaiban bizonyos rendellenességek, betegségek fellépésére gyakrabban számíthatunk, mint más időpontokban. A laboratóriumi vizsgálatokat ilyenkor célzottan, csak az állomány veszélyeztetett, de tünetmentes egyedeiből végezzük (pl. a szopós malacok anaemiaszűrése, a frissen ellett tehenek zsírmájiszindrómára irányuló ellenőrző vizsgálata).

A gyakorló állatorvos laboratóriuma

A klinikus állatorvos laboratóriumának berendezését a praxis jellege, az elérhető szaklaboratórium távolsága és nem utolsósorban az állatorvos laboratóriumi munkák iránti fogékonysága határozza meg. Bár e téren jelentős különbségek lehetnek az állatorvosi klinikák, rendelők között, mégis körvonalazható az az alapfelszerelés, ami elengedhetetlenül szükséges minden gyakorló klinikus számára.

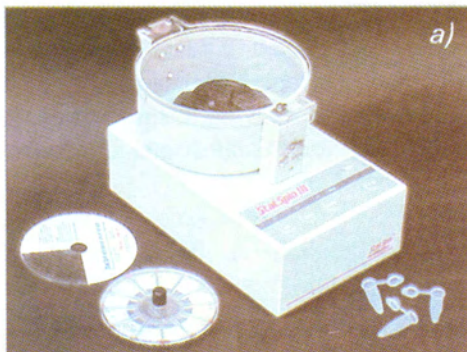
Az alapvető laboratóriumi műszerek, eszközök, anyagok megléte a feltétele annak, hogy el tudjuk végezni a legegyszerűbb vizsgálatokat. Kiterjedtebb laboratóriumi elemzéseket végző, esetleg más klinikákat is kiszolgáló laboratóriumokban természetesen a felsoroltakhoz képest jóval több műszerre, eszközre, reagensre van szükség.

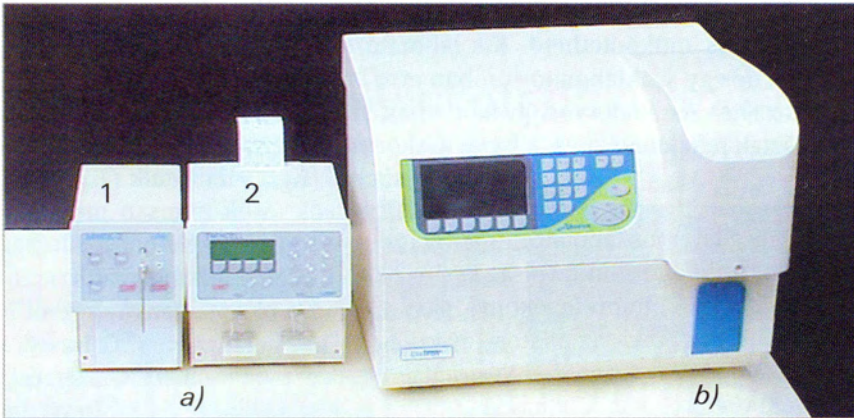
LABORATÓRIUMI MŰSZEREK/KÉSZÜLÉKEK

Mikroszkóp és tartozékok. A mikroszkóp a laboratóriumi vizsgálatok elengedhetetlen eszköze. Célszerű binokuláris, beépített fényforrású mikroszkópot beszerezni. A mikroszkóp legyen alkalmas immerziós vizsgálatokra is, amit a megfelelő tárgylencse (90x-es vagy 100x-os nagyítású homogén immerziós, ún. H-lencse) tesz lehetővé. Fáziskontrasztvizsgálatra is alkalmas mikroszkóp megkönnyíti a thrombocytaszámlálást, a vizeletüledék vizsgálatát.

1.1. ábra.
Laboratóriumi centrifugák

- a) kombinált funkciójú centrifuga cserélhető hematokritrotorral és -leolvasóval;
b) asztali centrifuga kilendülő rotorral, menetidő- és fordulatszámkapcsolóval





1.2. ábra.
 Állatvérek vizsgálatára is alkalmas, számítógéppel összeköthető hematológiai automaták
 a) félautomata
 1 hígítókészülék,
 2 mérőkészülék;
 b) automata LCD kijelzővel, külön csatlakoztatható nyomtatási lehetőséggel

Centrifuga. Állítható fordulatszámú asztali centrifuga beszerzése javasolható; ez bármilyen biológiai minta megfelelő fordulatszámon való centrifugálására alkalmas. A centrifuga rotorja lehetőleg kilendülő legyen. Vannak olyan kisméretű centrifugák, amelyek fordulatszámát csak a leggyakrabban használatos két értékre (pl. vizelet és vér centrifugálására) lehet beállítani. Amennyiben centrifugánkon a rotor nem cserélhető, és ezért hematokritrotort nem lehet rá felhelyezni, akkor egy mikrohematokrit-centrifuga beszerzése is indokolt. Az állatorvosi laboratóriumba javasolt centrifugatípusok az 1.1. ábrán láthatók.

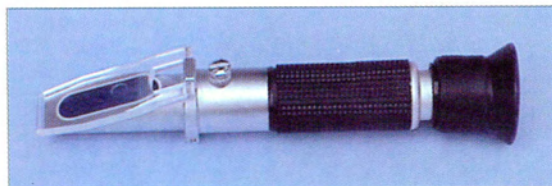
Hematológiai automata. A többfunkciós, különböző állatfajok vérének vizsgálatára is alkalmas, drága nagyautomaták csak szaklaboratóriumokban alkalmazhatók gazdaságosan. Állatorvosi rendelőkbe, kis laboratóriumokba a hazai fejlesztésű, állatorvosi szoftverrel működtetett félautomaták/automaták beszerzése javasolható (1.2. ábra). A humánorvosi célra készült hematológiai kisautomaták (félautomaták) változtatás nélkül még kutyák esetében is csak részlegesen használhatók.

Szárzókémiai analizátor. Egyre elterjedtebb, de költséges készülékek. Legegyyszerűbb képviselőjük az egy paramétert mérő vércukor-automata, de ma már főleg a több – diagnosztikailag fontos – paraméter meghatározására alkalmas készülékeket forgalmazzák. Az utóbbiak csak kevés gyakorló állatorvos laboratóriumában használhatók ki gazdaságosan. Nagyobb rendelők, főleg a sürgősségi ellátásra, éjszakai ügyeleti ellátásra is felkészültek számára ajánlhatók. Üzemeltetésük csekély laboratóriumi szakismeretet igényel, és azonnali eredményt szolgáltatnak. Van közöttük olyan, amelyik teljes vér vizsgálatára használható, többségük azonban szérumot/plazmát analizál. Az állatorvosi programokkal működők különösen hasznosak.

Spektrofotométer. A kémiai analízisek leggyakrabban használt készüléke. Az igényeinknek megfelelő készülék kiválasztásához széles körű a kínálat. A legegyszerűbb spektrofotométer egyszugárutas, csak szobahőmérsékleten és csak a látható fény hullámhossz-tartományában üzemel.

Enzimvizsgálatok végzéséhez célszerű olyan készülék beszerzése, amely 37 °C-on is működtethető. Kis laboratóriumban UV-fotométerre nincs igény, de egy szaklaboratóriumban erre is szükség lehet.

Refraktométer. Az állatorvosi gyakorlatban világszerte megtalálhatók a kézi és asztali refraktométerek, a hazai gyakorlatban – érthetetlen módon – mégsem terjedtek el. Kézi változataik (1.3. ábra) viszonylag olcsók, áruk gyorsan megtérül. Alkalmask egy csepp vizeletről a sűrűség megállapítására, vagy a mikrohematokritcsőben lévő minimális plazmamennyiségből is az összfehérje meghatározására. Célszerű a kétskálás klinikai refraktométer beszerzése, amellyel a vizelet sűrűsége és a vérszérum



1.3. ábra.
Kézi refraktométer

vagy vérplazma összfehérje-tartalma egyaránt mérhető.

Vízfürdő vagy fűthető, elektromos szárazblokk. Számos vizsgálathoz (enzimatis reakciók, haemostasisvizsgálatok, a bendőfolyadék vizsgálata) 37 °C-os hőmérsékletet kell biztosítani. A korszerű vízfürdők többsége termosztálható, és automatikusan tartja a beállított hőmérsékletet. Az elektromos szárazblokkok különböző méretű csövek befogadására alkalmas alumíniumbetétekkel készülnek, korszerűbbek és pontosabban tartják a kívánt hőmérsékletet, mint a vízfürdők, de meglehetősen drágák. Több kémiai analizátornak, koagulométernek tartozéka a fűthető szárazblokk, amit más anyagok termosztálására is használhatunk.

Ultrahangos mosogató. Kisméretű, műanyagból, üvegből vagy rozsdamentes fémből készült tárgyak tisztítására szolgáló korszerű készülék. Lehetővé teszi finom felszínű, sérülékeny, nehezen hozzáférhető eszközök (pl. küvetták) tisztítását. A legkisebb méretűek néhány deciliteresek, ezek a legtöbb laboratóriumi eszköz, kisebb kézi műszer tisztítására tökéletesen megfelelnek. Meglehetősen drágák, de áruk széles körű használhatóságuk révén hosszú távon megtérül.

Hűtőszekrény. A minták, reagensek tárolására célszerű hagyományos (+4...+8 °C) és mélyhűtős (-18 °C) hűtőszekrény beszerzése. Fel kell készülnünk arra is, hogy a biológiai mintákat hűtve tudjuk szállítani, ezért hűtőtáskát, jégakukat, esetleg széles szájú termoszt, valamint jégkocka készítésére alkalmas tartóedényt is szerezzünk be.

LABORATÓRIUMI ESZKÖZÖK

Vérsejtszámláló kamra (Bürker-kamra). A fehérvérsejtek, vörösvérsejtek, thrombocyták mikroszkópos számlálásához szükséges. A liquor sejtszámának meghatározására is igénybe vehető, bár erre kevésbé alkalmas, mert mélysége csak 100 µm.

Fuchs-Rosenthal-féle számlálókamra. A Bürker-kamrához képest kétszeres réteg-

vastagságú (200 μm), ezért liquorvizsgálathoz, bendőbeli infúzióriumok vizsgálatához ennek használata javasolható.

Stopperóra. Vérvadás-vizsgálatokhoz és más, időmérést igénylő vizsgálatokhoz nélkülözhetetlen eszköz. A nagy számlapos, többfunkciós laboratóriumi változatot érdemes beszerezni.

Bunsen-égő, bakteriológiai oltókacsok. Szakszerű bakteriológiai mintavételhez szükségesek.

Pipetták. A leggyakrabban használatos pipetták az 1.4. ábrán láthatók. Az automata pipetták állítható vagy adott térfogatúak. A 200–1000 μl között állítható típus hasznos segítője a mindennapi munkának. Kis laboratóriumokban ritkán használatosak (drágák), de szaklaboratóriumokban a többféle térfogathatár között mérő pipetta beszerzése elengedhetetlen.

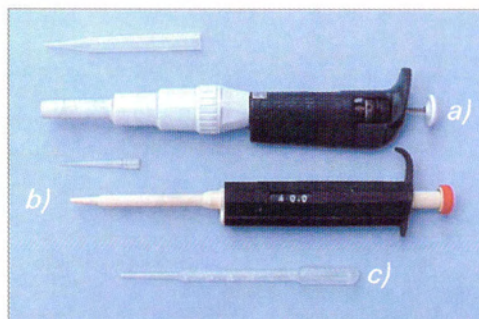
A különböző űrtartalmú (1–5 ml-es), egyszer használatos, műanyag Pasteur-pipetták vizelet, vérplazma, bendőfolyadék stb. és különböző reagensek leszívására, adagolására kitűnően használhatók. Pontos térfogatok kimérésére azonban még azok sem alkalmasak, amelyeken kalibrációs jelzés van.

A véresejtszámláláshoz korábban széles körben használt fehér és piros gyöngyű adagolópipetták (melangeur-pipetták) egyre inkább kiszorulnak a gyakorlatból. Helyettük a 0,05 és 0,1 ml térfogatra kalibrált Hagedorn-pipetta, még inkább az ugyanekkora térfogat felszívására is alkalmas, de más célra is használható automata pipetták beszerzése javasolható.

Vérvételi csövek. A különböző vérvizsgálatokhoz más és más alvadásgátlóval preparált vérvételi cső használata indokolt. Mára már egyértelmű tapasztalat, hogy takarékoságból nem érdemes a házi előkészítésű vérvételi csövekkel dolgozni, mivel több velük a gond, mint amennyi hasznot hoznak. Ezért főleg azoknak a rendelőknek, ahol naponta kevés vérmintát vesznek, csak gyári vérvételi csövek használata javasolható.

Műanyag folyadék tartó edény („spriccflaska”). A kereskedelmi forgalomban kapható, többféle méretű, puha falú, csavaros tetejű edények. A tető furatán át az edény aljáig vezetett műanyag csövön keresztül a folyadék az edény összenyomásával adagolható. A 200 ml-es méret elegendő. Desztillált víz vagy bármilyen más folyadék (pl. fertőtlenítőszer, festékoldat) tárolására, egyszerű adagolására, nagyállatoknál húgyhólyag katéterezéséhez mintavevő edényként használható.

Egyéb eszközök. Az üvegeszközök közül óraüvegek, kémcsövek, pipetták, lombikok, tárgy- és fedőlemezek, üvegbotok, továbbá ollók, csipeszek, vérvételi tűk, laboratóriumi állványok (kémcsőállvány, véresejsüllyedést mérő csőhöz állvány, pipettaállvány), veszélyeshulladék-tároló edény stb. a helyi igények szerinti mennyiségben kellenek. Legyen a laboratórium-



1.4. ábra.
Laboratóriumi pipetták
a) és b) állítható,
automata pipetta;
c) Pasteur-pipetta

ban parafilmtekerics a csövek, lombikok lezárására, továbbá íróeszközök (köztük üvegrítő tollak, öntapadó címkék) is.

LABORATÓRIUMI ANYAGOK, REAGENSEK, DIAGNOSZTIKUMOK

pH-papír, reagencscsíkok (tesztcsíkok). Univerzális (pH = 1–14 között mérő) vagy finomskálás pH-papírra minden laboratóriumban szükség van (1.5. ábra). A vizeletvizsgálatokhoz és egyes vérvizsgálatokhoz elengedhetetlen az orvosi diagnosztikában elterjedt reagencscsíkok (tesztcsíkok) beszerzése.

1.5. ábra.
A laboratóriumi diagnosztikában használatos pH-papír és tesztcsíkok
a) univerzális pH-papír;
b) tesztcsík plazmakarbamid;
c) vérglükóz;
d) ketonanyagok mérésére;
e) vizelet-tesztcsík (kilenc paraméter vizsgálatára alkalmas)



Ezek bizonyos korlátok mellett (☞ 225. o.) jól alkalmazhatók az állatorvosi munkában is. A kombinált (7–9 paraméter vizsgálatára alkalmas) vizelet-tesztcsíkok fajlagos költsége kedvezőbb, mint ha több mono- vagy difázisos csíkot vennénk igénybe. Bár a vizelet-tesztcsíkok mindegyikén van pH-zóna is, külön pH-papír beszerzése mégis indokolt, mert sokszor csak pH-mérésre van szükség (pl. bendőfolyadék

esetében), amihez a vizelet-tesztcsík használata drága. A vérvizsgálatokhoz alkalmas szemikvantitatív tesztcsíkok közül a karbamid, a glükóz és a ketonanyagok mérésére alkalmast célszerű beszerezni.

Festékek. Vérkenetek, citológiai minták stb. festéséhez előnyben részesítjük az ún. gyorsfestékeket, amelyekkel a festési idő a felére-harmadára rövidül. Sok forgalmazó kínál jól használható termékeket.

Vizeletvizsgáló reagensek. Újabbán ezek a folyadék- vagy porreagensek háttérbe szorultak, bár a szulfoszalicilsavas próba ma is nehezen helyettesíthető mással (a szulfoszalicilsav 10%-os oldata gyógyszerárban készen beszerezhető). A Donné-reagens a fehérvérsejtek, a Ross-reagens az acetecetsav és az aceton, a nátrium-ditionit-oldat a paraquat kimutatására alkalmas. (A Ross-reagens használható a vérplazma és a tej, a nátrium-ditionit-oldat a szérum és a gyomortartalom vizsgálatára is.)

Formaldehidoldat. 8–10%-os vizes oldatot használunk szövettani minták rögzítésére. Az oldatot jól záró edényben kell tartani.

Liquorvizsgáló reagensek. A leggyakrabban használt Pándy-reagens 10%-os karbolsavoldat (gyógyszerárban kapható).

Reagenskészletek (tesztkészletek) klinikai kémiai vizsgálatokhoz. Állatorvosi célra csak kivételesen gyártanak ilyeneket, a humánorvosi laboratóriumi diag-

nosztikában használatos készletek alkalmasak (általában változtatás nélkül) állati eredetű minták vizsgálatára is. Beszerzésük a laboratórium felkészültségétől, lehetőségeitől és az igényektől függően indokolt. Egyes paraméterek mérésére ún. monotesztek is elérhetők, amelyeknek egy mintára vetített ára természetesen magasabb, mint a nagyobb kiserelésű (50–100 meghatározásra való) kollekcióké. Kiszámú minta esetében mégis ezeket érdemes megvásárolni. A kémiai vizsgálatokat nagyon megdrágítja a kontrollsavók beszerzése, azonban ezek nélkül pontos laboratóriumi munka nem képzelhető el. Ha lehetséges, több laboratórium közösen vásároljon kontrollsavókat a költségek csökkentésére.

Alvadásgátlók (antikoagulánsok). A vérvizsgálatokhoz 3,8%-os nátrium-citrát-oldat, EDTA- (kálium- vagy nátriumsója), lítium- vagy nátrium-heparinát-oldat szükséges. (Heparinos alvadásgátláshoz használható a nátrium-heparinát-tartalmú injekció is.) Itt is hangsúlyozzuk, hogy leghelyesebb a gyári vérvételi csövek használata, amelyek a szükséges mennyiségben tartalmazzák a megfelelő antikoagulánst (☛ 22. és 23. o.)

Immerziós olaj. A mikroszkópos vérkenetvizsgálathoz, a citológiai vizsgálatokhoz nélkülözhetetlen.

Dúsítófolyadékok parazitapeték dúsításához (☛ 351. o.).

Egyéb anyagok. A mindennapi igényeknek megfelelő mennyiségben a laboratóriumi vizsgálatokhoz gondoskodni kell papír törülközőről, fertőtlenítőszerekről, mosogatószeréről stb.

A hivatásos laboratóriumok vizsgálati lehetőségei, igénybevétele

ÁLLATORVOSI LABORATÓRIUMOK

A külső igényeket is kiszolgáló, csak laboratóriumi tevékenységet folytató állatorvosi laboratóriumok száma Magyarországon kevés, és mivel a piaci igény behatárolt, a helyzet a közeljövőben várhatóan nem is fog jelentősen változni. Egy ilyen laboratórium gazdaságos működtetése ugyanis csak nagyszámú minta esetén képzelhető el, ugyanakkor ennek a mintaszámnak földrajzilag közelről kell eljutnia a laboratóriumba.

A szaklaboratórium saját mintagyűjtő szolgálata elősegítheti a klinikusok laboratóriumi igényeinek kielégítését. Sokszor lehetséges a minta beküldése postai úton is, de a gyors meghatározást igénylő vizsgálatok esetében nem vehetjük igénybe ezt a mintaküldési módot.

Az említett okok miatt az állatorvosi laboratóriumok többsége nem „csak” laboratóriumi tevékenységet folytat, hanem az ott dolgozó állatorvosok klinikai munkát is végeznek.

HUMÁNORVOSI LABORATÓRIUMOK

Az utóbbi években egyre gyakrabban észlelhető, hogy a klinikus állatorvosok közül sokan humánorvosi szaklaboratóriumoktól kérnek vizsgálatokat. A magyarázat kézenfekvő, hiszen egy állatorvosi klinikához földrajzilag közeli kórházi laboratóriumban a technikai eszközök megvannak, a vizsgálatok ára (a nagyszámú analízis miatt) elfogadhatóan alacsony, a humánorvosi laboratóriumoknak is érdekük a bevételek növelése. Az ott alkalmazott módszerek többsége alkalmas az állati eredetű vér- és vizeletminták feldolgozására is. A legtöbb gondot az eredmények értelmezése jelenti, főleg abban az esetben, ha egy laboratóriumi automata által szolgáltatott vizsgálati eredményről van szó. A humánorvosi laboratóriumok hematológiai és kémiai analízatorainak igénybevétele ugyanis számtalan előny mellett hátrányokkal is jár.

A humánorvosi laboratóriumok igénybevételének *előnyei*:

- mind a hematológiai, mind a többszörös kémiai automaták rövid idő alatt kis mennyiségű mintából nagyszámú információt nyújtanak. Közülük több régebben elérhetetlennek tűnt a klinikus állatorvos számára (pl. a hematológiai automaták által szolgáltatott adatsor, ami tartalmazza

- a származtatott értékeket, a thrombocyták és a vörösvérsejtek, esetleg a fehérvérsejtek megoszlását is);
- egy megfelelő (pl. belgyógyászati osztályt kiszolgáló) kórházi vagy körzeti rendelőintézeti laboratóriumban tömegesen végeznek naponta olyan vizsgálatokat, amelyek közé néhány állati eredetű minta behelyezése technikailag semmilyen nehézséget nem okoz, a mérés szakmailag rendszeresen ellenőrzött, és a nagyszámú analízis miatt olcsó is;
 - a korábbi idegenkedés a humánorvosi laboratóriumok részéről az állati eredetű minták feldolgozására jelentősen csökkent, mert anyagi érdekeltségük fokozódik;
 - Magyarország egész területét figyelembe véve egy klinikus állatorvos hamarabb talál a rendelőjéhez közel egy humánorvosi, mint egy állatorvosi laboratóriumot.

A humánorvosi laboratóriumok igénybevételének *hátrányai*:

- a magyarországi humánorvosi hematológiai automaták többségén nincs átállítási lehetőség állati vérek mérésére. Ilyen automatán csak kutyavér elemezhető. A kisebb vörösvérsejt-átmérőjű állatfajok (pl. macska, főleg pedig a kecske) erythrocytáinak jelentős részét az automata thrombocytának számolja, ezért tévesen kis vörösvérsejtszámot közöl. Az ilyen automata által ténylegesen vörösvérsejtnak számolt sejtek átlagos mérete (térfogata, *MCV*) viszont emiatt tévesen nagyobb lesz. A hematológiai analizátorok embervérre kidolgozott hígítóoldatait *in vitro* a különböző állatfajok vörösvérsejtjeire kedvezőtlen (zsugorító- vagy duzzasztó-) hatást gyakorolhatnak, ami az *MCV*-értéket tévesen megváltoztatja.

A hematokritértéket az automaták a vörösvérsejtszám és az *MCV* hányadosaként számolják ki. Ezért bármilyen téves mérési eredmény hamis hematokritértéket is ad! Tovább folytatva a gondolatot: a tévesen kis vörösvérsejtszám következtében hamisan nagyobb vörösvérsejtbeli hemoglobinkoncentrációt (*MCHC*-értéket) kapunk, ami egyébként hemolízis esetén gyakori;

- a fehérvérsejtszám téves növekedését jelezheti egy automata, ha pl. az előzetes hemolízis nem volt tökéletes, és így a vörösvérsejt-maradványokat fehérvérsejtnak számolja a gép. Hasonlóan tévesen nagy fehérvérsejtszámot okozhat, ha thrombocytáaggregátumokat számol fehérvérsejtnak az automata (macskavérben gyakran fordul elő a thrombocyták összecsapódása). A téves eredményeket rendszeres ellenőrzéssel (mikroszkópos újraszámolás, vérképelemzés stb.) lehet csak kiszűrni, amit egy humánorvosi rutinlaboratóriumtól nem biztos, hogy elvárhatunk;
- a humánorvosi felhasználásra készült kémiai analizátorokkal kapott eredménylap ugyancsak gyakran tartalmaz hamis riasztási értékeket az állati eredetű vérek elemzésekor. Ezek a készülékek ugyanis saját programjuk alapján a kinyomtatott eredménylapon feltűnően jelzik az emberekre vonatkozó kórosan nagy vagy kicsi értékeket. Különös felelősség hárul

ilyenkor a leletet kérő klinikus állatorvosra, hogy saját betege ismeretében helyesen értékelje a kapott eredményeket. Ugyanakkor nemegyszer a laikus állattartónak (aki kézbe kapja a leletet) is érthetően meg kell magyaráznunk: egy humánkórházi laboratóriumi leletben szereplő, „emelkedettnek” vagy „csökkentnek” jelzett érték nem feltétlenül utal valóban kóros állapotra az ő állata esetében;

- lehetséges, hogy egy paraméter élettani értéke egy állatban olyan kicsi, hogy a humán laboratóriumi automata nem kellően érzékeny annak vizsgálatára (pl. kutyavérben a T₃- és a T₄-szint negyede-harmada a humán értékeknek);
- a laborleletező szakasszisztens és a leletkiadásért aláírásával felelősséget vállaló laboratóriumi orvos nem ismeri az állatok esetében érvényes élettani értékhatárokat, ezért a leletet nem is adhatja ki olyan felelősséggel, mintha emberi vérről vonatkozó adatokat nyújtana. A kóros mérési eredmények ellenőrzésére, újramérésére ezért nem mindig kerül sor, mondván: egy adott paraméter értéke „biztosan azért volt magas, mert állatvérről van szó”.

SÜRGŐSSÉGI LABORATÓRIUMI VIZSGÁLATOK

Elméletileg sürgősségi vizsgálatokról akkor beszélhetünk, ha egy laboratóriumban rendszeresen, nagy számban rutinmeghatározásokat végzünk, és közülük néhányat sürgős esetben bármikor el tudunk végezni vagy végeztetni. A klinikus állatorvos laboratóriumi vizsgálatai gyakorlatilag sürgősségi vizsgálatok, hiszen legtöbbször a klinikai vizsgálat közben, a beteg állat mellett kell elvégezni azokat.

A gyakorlatban megvalósítható sürgősségi vizsgálatok közül elsősorban a reagenscsíkokkal (tesztcsíkokkal) kivitelezhetőket javasoljuk elvégezni:

- vizeletösszetevők multitesztcsíkkal, refraktométerrel, szulfoszalicilsavas próbával,
- vérösszetevők (vérglükóz, karbamid, ketonanyagok – tejben is –, összfehérje) refraktométerrel,
- hematokritérték.

Ahol száraz- vagy ritkábban nedveskémiai analizátor, vérgáz-analizátor, ionométer is rendelkezésre áll, a következő paraméterek sürgősségi mérésére ajánlatos felkészülni:

- vérgázanalízis,
- kreatinin, Na⁺, K⁺, kalcium (ha lehetséges, Ca²⁺).

A vizsgálati mintákkal kapcsolatos tudnivalók

A különböző célból vett biológiai minták mintavételi módjában és további kezelésében jelentős különbségek vannak, ezért a következőkben csak néhány általános útmutatást adunk (a részleteket lásd a megfelelő fejezetekben).

Kivételt ez alól a kórszövettani vizsgálatokra való mintagyűjtés és -tárolás képez, mivel ilyen vizsgálatokat Magyarországon csak néhány felkészült szaklaboratórium végez. (A könyvben önálló kórszövettani fejezet nincs, ezért a minta-előkészítés és -beküldés módját itt ismertetjük.)

A VÉRMINTAVÉTEL ÁLTALÁNOS TUDNIVALÓI

Vérmintát lehetőleg olyan állatból vegyünk, amely a mintavételt megelőző 6-12 órában nem kapott eleséget/takarmányt. A mintát általában vénás vérből vesszük az 1.1. táblázatban megadott tűméretek használatával.

1.1. táblázat.

A vérvétel javasolt helyei állatokban és a megfelelő tűméretek

Állatfaj	A vérvétel helye	Tűvastagság, G (gauge)	Tűhosszúság, cm
Ló	v. jugularis	16-19	5-7
Szarvasmarha	v. jugularis, v. coccygea,* v. uberis	16-19	5-7
Juh, kecske	v. jugularis	18-20	5-7
Sertés	v. cava cranialis	20	8-16
Kutya	v. cephalica antibrachii, v. jugularis, v. saphena	20-22	5
Macska	v. cephalica antibrachii, v. jugularis, v. saphena	22-25	3-4
Nyúl, tengeri malac	szív, v. auricularis lateralis	18	1-5
Kis testű majom	arteria vagy v. femoralis	22-26	1-4
Patkány, egér	sinus orbitalis, v. coccygea, felpreparált v. jugularis	26	1-4
Madár	v. axillaris, v. cutanea ulnaris	22-26	2-4

* Szarvasmarhában a *vena coccygea*t klinikai laboratóriumi vizsgálathoz csak indokolt esetben pungáljuk, részben a bőrterület szennyezettsége, részben az alkalmazott vákuum okozta gyakori hemolízis elkerülésére.

Vérvételkor a fokozott izgalmi állapottal járó adrenalinhatás a hematokritértéket és a fehérvérsejtszámot növelheti. Narkotizált állatban pedig arra lehet számítani, hogy a lép elernyedése miatt a vér felhalmozódik ebben a szervben, s így módon gyakorlatilag kizáródik a keringésből. Emiatt a plazma összfehérje- és albumintartalma csökkenhet, mivel a hypovolae-

mia kompenzálására az interstitiumból folyadék áramlik a keringésbe, ami haemodilúcióval jár.

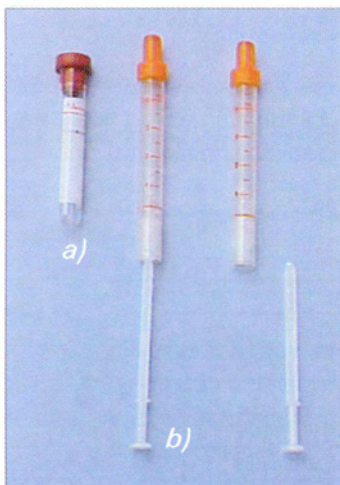
A vérvétel technikája

A vérvételi eljárások közül feltétlenül a zárt rendszerűek használata javasolható. A korábban elterjedt nyílt vérvételi eljárás (a vér csöpögtetése a vércsőbe) lassan kiszorul a gyakorlatból. Mindkét esetben szükség van a kiválasztott véna leszorítására. Helyes, ha a sikeres vénaszúrás után a vérvétel közben a vénát felengedjük.

Zárt vérvételi eljárások

A zárt vérvételi rendszer előnye, hogy nem okoz vérszennyezést sem az állaton, sem a mintavevő személy kezén, sem a környezetben, így elenyésző az állatról átterjedhető betegségek veszélye. A másik előny, hogy min-

1.6. ábra.
Vákuumos vérvételi
cső és fecskendő
a) vérvételi cső;
b) fecskendő
(a dugattyú
nyelének letörését
követően centrifuga-
csővé alakítható)



tánk kontaminációjára (baktériumokkal, állati szőrökkel, vattaszállal stb.) nincs lehetőség. A zárt vérvételi technikák közül leg-egyszerűbb a *tű* és *fecskendő* segítségével végrehajtott mintavétel. A fecskendőbe lehet alvadásgátlót tenni, de ha a vérvételt kellő gyorsasággal, megfelelő vákuum mellett végezzük, erre nincs szükség. (Ne használjunk nagyobb fecskendőt, mint amennyi vére van szükségünk.) A vérvételt követően a tűt vagyuk le a fecskendő kónuszáról, mielőtt a mintát az előkészített vércsővekbe juttatjuk, hogy a hemolízist elkerüljük. Haemostasisvizsgálatokhoz ezt a vérvételi eljárást ne használjuk, hiszen az alvadási folyamatok azonnal elkezdődnek a vérvétel pillanatában!

1.7. ábra.
Vérvétel kutyából
vákuumos vérvételi
csőbe, speciális vér-
vételi harang segít-
ségével



A másik zárt vérvételi lehetőség az állatorvosi gyakorlatban is terjedő *vákuumos, alvadásgátlót tartalmazó gyári vérvételi csövek* vagy *fecskendők* használata (1.6. ábra). Ezeknek számos fajtája ismeretes. Lényegük, hogy olyan jól zárt csőbe (fecskendőbe) vesszük a vért, amelyben akkora vákuum van (vagy akkora vákuumot lehet benne létesíteni), ami a vénába való szúrás után csak

a csőben lévő alvadásgátlóval arányos vér bejutását teszi lehetővé. A gyári vérvételi csöveknek számos előnyük mellett egyetlen hátrányuk, hogy drágábbak a hagyományos vérvételi csöveknél.

A helyes mintavétel módját vákuumos vérvételi csőbe az 1.7. ábra mutatja.

Nyílt vérvételi eljárás

A legkevésbé ajánlott, sajnos mégis széles körben használatos módszer. Kétségtelen, hogy a sikeres vénapunctiót a tű kónuszán megjelenő vércsepp biztosan jelzi, és ez a legolcsóbb eljárás, de nem szakszerű. Lényege a „csöpögtetés”: a tű kónusza alá helyezzük a vérvételi csövet, és megvárjuk, míg megtelik. Hátránya, hogy a vér közben alvadásnak indulhat, mivel az alvadásgátló a cső alján van, és a cső átfordítására csak annak megtelése után van módunk. Kis testű állatokból nagyon fontos lenne az első néhány csepp vér felfogása is, de ez gyakran meghiúsul. A módszer további hátránya, hogy a vérminta könnyen szennyeződhet. Ebből a szempontból nemcsak a mikroszkópos méretű (pl. bakteriológiai) szennyeződésre kell gondolnunk. Sok esetben okozta az érzékeny laboratóriumi automaták dugulását az, hogy a nyílt vérvétel közben vattaszál vagy levágott szűrőszál került a vérmintába. Nem elhanyagolható az sem, hogy egy rosszul rögzített állat (főleg nagyállat) mozgásakor kezünk, a vércső, sőt az egész környezet véres lesz.

A gyári és a házilag előkészített vércsövek használata

A gyári vércsövek – amelyek készen, megfelelő arányban tartalmazzák az anti-koagulánsokat – az állatorvosi gyakorlatban is jól használhatók. A zárt és a nyitott vérvételi technika esetén is pontosan a vércsőben lévő jelig kell venni a vért, mert egyébként a térfogatviszonyok megváltoznak. (Ha várható, hogy kevés mintát tudunk nyerni, használjuk a gyerekekből való vérvételre készített kisméretű csöveket.) Amennyiben a vérminta mennyisége jóval a jel felett van, két káros következményre számíthatunk: egyrészt az alvadásgátlás nem lesz tökéletes, másrészt a csőbe nem, vagy alig tudjuk a dugót visszanyomni. Ha ez végre sikerül is, a csövet hiába fordítjuk át, a vér nem fog az alvadásgátlóval elkeveredni.

Amennyiben házilag előkészített vércsöveket használunk, az előkészítés következő szabályait kell betartani:

Előkészítés hematológiai vizsgálathoz. A vérmintát EDTA-s csövekbe (Na- vagy K-EDTA) vegyük, mert egyéb alvadásgátlók zsugorítják vagy puffasztják a sejteket, így a hematológiai automatákon kóros értékeket kaphatunk. A szükséges K-/Na-EDTA (1 ml vérhez 1 mg) vízben nagyon rosszul oldódik, 1–2%-os oldatából 20, ill. 10 csepp kell 10 ml vérhez. Ekkora mennyiségű alvadásgátló azonban már eltolná a térfogatarányt, ezért ahol házi előkészítés folyik, ott a laboratóriumban előzetesen beszárítják az EDTA-oldatot a csövekbe. Tekintve, hogy az eljárás nagyon körülményes, és sok többletmunkával jár,

lehetőleg mindig gyári csövet használjunk. A madarak és a hullók vérenek hematológiai vizsgálatára ne EDTÁ-t, hanem heparint vegyünk igénybe.

Előkészítés klinikai kémiai vizsgálatához. A kémiai vizsgálatokat szérumból vagy plazmából végezzük. Plazma nyerésére általában heparint használunk, ennek van a legkevesebb káros következménye az alvadásgátlók közül. A gyári heparinos csövekben nátrium-, lítium- vagy ammónium-heparinát található. Egy ml vérre számítva 0,75 mg heparin akadályozza meg az alvadást. A magyarországi gyakorlatban három csepp Heparin-injekciót (Na-heparinátot tartalmaz) adunk 10 ml vérhez (vagy kevesebb vérhez arányosan kevesebbet).

Előkészítés haemostasisvizsgálathoz. A véralvadás vizsgálatára alkalmas módszerek, reagenskészletek használata esetén kizárólag a *citrátos* alvadásgátlást alkalmazhatjuk. Saját előkészítés során 3,8%-os Na-citrát-oldatot használunk, ebből 1 részhez 9 rész vért veszünk (pl. 0,5 ml citrátoldat és 4,5 ml vér 5 ml-es fecskendőbe). Gyári citrátos vérvételi csövek esetén különösen fontos, hogy a csövet jelig töltsük vérrel.

Előkészítés vérsajtüledés-méréshez. Ugyancsak *citrátos* vérmintát veszünk, de más térfogatviszonyok szerint: a Na-citrát 3,8%-os oldatából 1 részhez 4 rész vért veszünk (pl. 1 ml citrátoldat és 4 ml vér 5 ml-es fecskendőbe). Célszerű a régi, nehezen kezelhető Westergreen-csövek és -állvány helyett a hasonló elven működő, de egyszerűbb, egyszer használatos gyári készletek használata (➔ EGYÉB, RITKÁBB VIZSGÁLATOK, 390. o.), amelyeknek tartozéka az antikoaguláns tartalmazó vérvételi cső is.

A vérvételt követően – függetlenül a vérvétel módjától és a vérvételi cső milyenségétől – a csövet legalább 3-4-szer óvatosan fordítsuk át (kivéve, ha szérum nyerésére törekszünk).

MINTAVÉTEL, MINTAKÜLDÉS KÓRSZÖVETTANI VIZSGÁLATRA

A kórszövettani vizsgálat az állatorvosi laboratóriumi diagnosztikai módszerek között viszonylag olcsó, ugyanakkor hatékony és informatív eljárás. Célja, hogy a patológus az állatból nyert szövetrészlet morfológiai vizsgálatával meghatározza az elváltozás természetét (esetleg az okát is), továbbá a daganatok esetében megállapítsa a daganat típusát, és prognózist is mondjon. A morfológiai vizsgálatokkal szemben támasztott elvárások csak abban az esetben lehetnek reálisak, ha a minta vétele, rögzítése, kezelése szabályszerű.

A szövettani mintavétel technikája

A szövet kimetszéséhez mindig éles eszközt használjunk, amivel sima metszési felszíneket lehet készíteni, így a minta szélei alig károsodnak. A mintát

(biopátumot) óvatosan kell kezelni, mert összenyomásakor, csipesszel való szorításakor olyan műtermék keletkezhet, ami megnehezíti az értékelést.

A kimetszést mindig úgy végezzük, hogy az ép és az elváltozott terület határa kerüljön a mintába. Daganatoknál fontos annak megállapítása, hogy a kimetszés ép szövetből történt-e, ill. a daganat milyen mértékben infiltrálta a környezetét.

Nagyobb szövetszaporulatok esetében több helyről vegyünk mintát, hogy ne csak elhalt, értékelhetetlen szövetrész kerüljön bele. Ez azért is indokolt, mert a nagyobb daganatokban az egyes területek szövettani képe különböző lehet.

Elektrokauterrel, lézerebészeti eszközzel vett szövetminták – különösen az apró, 1 cm átmérőnél kisebbek – rendszerint alkalmatlanok szövettani vizsgálatra, mivel ezek az eszközök hőhatásuk miatt erősen roncsolják a szöveteket.

A biopsziás mintavétel a megfelelő eszközzel, helyes technikával kivitelezve veszélytelen eljárás. A mintavétel pontosságát a modern képkalkító vizsgálóeszközök (ultrahangos, száloptikás műszerek) igénybevétele növeli. A túbiopsziás mintavételkor is ajánlatos több helyről mintát venni, mivel ezzel az eljárással legfeljebb 6–8 mm átmérőjű szövethengert nyerhetők. (Különösen ajánlható a módszer nagyobb terjedelmű vagy multiplex elváltozások esetében.)

A nyert szövetminta származhat lágyszövetekből, és lehet csontszövet vagy porc szövet.

Lágyszövetekből különböző módszerekkel lehet mintát venni. A leggyakoribb a *biopsziás* mintavétel, amikor a vizsgálni kívánt szövetből egy erre a célra kialakított biopsziás műszerrel 1–2 cm hosszú és néhány mm átmérőjű szövethengert metszünk ki, vagy egy injekciós tű (G 20–22) végére csatlakoztatott 5 ml-es fecskendővel kiszippantjuk a mintát (aspirációs biopszia, hasonlóan az aspirációs citológiai mintavételhez). Nagyszűkület esetén pl. májbiopsziához (aspirációs biopszia) akár 5–7 mm külső átmérőjű speciális tűt is igénybe vehetünk. Használatos még a kimetszés (*excisio*) is, amikor az elváltozott területből kisebb szövetrészeket metszünk ki, vagy előfordul, hogy a műtétkor teljesen eltávolított szervet küldjük szövettani vizsgálatra.

Csont- (csontvelő-) biopsziás minták vastag tűvel vagy excisióval nyerhetők. A mintavétel előtt és után egyaránt ajánlott az elváltozott terület röntgenvizsgálata, az előbbi esetben a mintavétel helyének meghatározása, az utóbbiban pedig a beavatkozás hatásának ellenőrzése céljából.

A szövetminták rögzítése

Rögzítés formaldehidoldattal. A szövettani vizsgálatra szánt mintát a struktúra megőrzése végett rögzíteni kell. A rögzítőszer leggyakrabban a formaldehid vizes (8–10%-os) oldata. A formaldehidoldatban a tárolás során fény hatására

hangyasav képződik, ami károsan hat a rögzítésre. Ennek megelőzésére a formaldehidoldatot sötét üvegben kell tárolni, és ajánlatos pufferolni.

A pufferolt formaldehidoldat összetétele: 100 ml 37–40%-os formaldehidoldat, 900 ml desztillált víz, 4 g nátrium-dihidrogén-foszfát (NaH_2PO_4), 6,5 g dinátrium-hidrogén-foszfát (Na_2HPO_4).

A rögzítés sikerét alapvetően három tényező befolyásolja:

- *a rögzítőszer koncentrációja.* 10%-osnál töményebb formaldehidoldat erősen koagulálja a fehérjéket, emiatt a szövetmintán „kéreg” alakul ki, ami megakadályozza a rögzítőszer további behatolását a mintába, így annak közepe autolizálhat;
- *a minta és a rögzítőszer aránya.* A rögzítőoldat mennyisége a minta térfogatának 10-szerese legyen, mert ha kevesebb, akkor a rögzítőkapacitása kimerülhet, és a minta „alulrögzített” lesz;
- *a rögzítendő minta nagysága.* Figyelembe kell venni, hogy a rögzítőszer behatolása időbe telik. Formaldehidoldat esetében a behatolási sebesség 3–4 mm/24 h. A szövetminta emiatt ne legyen vastagabb 6–8 mm-nél. Nagyobb szövetszaporulat (pl. műtéttel eltávolított daganat) beküldésekor a jobb rögzítés elősegítésére a mintában több mély bemetszést kell tenni. Ügyeljünk arra, hogy a minta ne tapadjon a tárolóedény aljához, mert így a rögzítés nem lesz megfelelő, és a minta autolizálhat.

A mintatartó (lehetőleg műanyag) edény jól zárható, széles szájú legyen, mivel a rögzített szövet merevedik. Szűk szájú üvegben rögzített mintákhoz gyakran csak az üveg összetörésével lehet hozzájutni, ami balesetveszélyes.

A patológiai laboratóriumokban a formaldehidben rögzített, paraffinba ágyazott anyagokon kórokozók, daganatmarkerek stb. kimutatására immunhisztokémiai reakció, PCR, *in situ* hibridizáció stb. is elvégezhető. A 48 órán túl 10%-os formaldehidoldatban tartott anyagokon ezek a vizsgálómódszerek a túlrögzítés miatt esetleg nem adnak kielégítő eredményt.

Egyéb rögzítési technikák. Elektronmikroszkópos vizsgálatra szánt mintákat 2–5%-os, +4 °C hőmérsékletű, pufferolt glutáraldehid-oldatban vagy 4%-os töménységű formaldehidoldatban is rögzíthetünk.

A háztartásokban elterjedt mikrohullámú sütők is használhatók szükség esetén a minta rögzítéséhez. A kb. 1 × 1 cm-es szövetmintát 400–500 ml élettani NaCl-oldatba helyezve a mikrohullámú sütő legnagyobb teljesítményű fokozatán – rövid szünettel – 2-szer 3 percreg forrásig melegítjük. A mintát az oldatban hagyjuk kihűlni, ami így (gyakorlatilag steril körülmények között) 1–2 napig tárolható.

A vegyszergyártók törekednek a formaldehid helyettesítésére, mivel az irritáló, rákkeltő anyag. Néhány magyarországi cég már forgalmaz olyan rögzítőszerket, amelyek rögzítési tulajdonsága hasonló a formaldehidéhez, de nem toxikusak.

A szövettani tárolása

A szövettani minta szükség esetén 1–2 napig rögzítés nélkül is tárolható hűtőszekrényben +4 °C körüli hőmérsékleten. Ebben az esetben ügyelni kell arra, hogy a minta ne száradjon ki. Ennél hosszabb ideig tartó rögzítés nélküli tárolás során a mintában autolízis következik be, ami lehetetlenné teszi a szövettani értékelést.

A kórszövettani vizsgálatra szánt szövettani minták fagyasztását kerülni kell. A fagyasztáskor a sejtekben keletkező jégkristályok, majd azok felolvadása súlyos fokú sejtkárosodást okoz. Ne küldjünk szövettani vizsgálatra alkoholban vagy acetonban rögzített mintákat, mivel ezek a vegyszerek erőteljes víz-elvonás révén rögzítenek, így a minta – ha 2 óránál tovább áll bennük – olyan erősen zsugorodik, hogy emiatt nem lehet értékelhető metszetet készíteni.

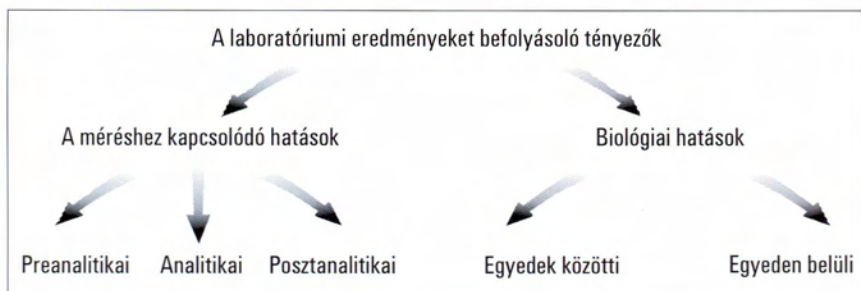
A szövettani laboratóriumba küldése

A szövettani vizsgálatra küldött mintát azonosíthatóan jelölni kell. Minden mintát külön mintatartóba helyezünk, még abban az esetben is, ha egy állatból több, különböző helyről származó mintát küldünk. A minták postai úton való küldése esetén a csomagolás módjára a hatályos állategészségügyi szabályzatban foglaltak irányadók. Postai úton olyan edényzetben küldjük csak a mintát, amiből a szállítás során a rögzítőszer nem párolog el, és nem folyik ki.

Ha a mintákat laboratóriumba küldjük vizsgálatra, akkor megfelelő kísérelírással (a beküldő neve, címe, telefonszáma, a mintavétel időpontja, az állat faja, ivara, kora, azonosító jele, klinikai adatok) juttassuk el a vizsgálóhelyre. A kísérelírással szereplő klinikai adatok (az elváltozások elhelyezkedése, száma, rövid leírása, növekedésének jellege és üteme, bióptátum esetén a mintavétel helye és a gyógykezelés módja) fontosak a patológus számára.

A laboratóriumi eredményeket befolyásoló tényezők, hibaforrások

A laboratóriumi vizsgálatok eredményeinek ismerete csak akkor segít a diagnózis felállításában, ha tisztában vagyunk az azokat befolyásoló hatásokkal, hibaforrásokkal (1.8. ábra). A laboratóriumi vizsgálat kivitelezésével kapcsolatos hibaforrásokat ki kell zárni a vizsgálat során, ill. törekedni kell arra, hogy hatásukat a lehető legkisebbre csökkentsük. A biológiai tényezőket (az egyedek közötti, ill. az egyeden belüli különbségekből adódókat) természetesen nem tudjuk kiküszöbölni, de hatásukat az eredmények értékeléskor messzemenően figyelembe kell venni.



1.8. ábra.
A laboratóriumi eredményeket befolyásoló tényezők

A vizsgálat kivitelezése során a következő hibaforrások befolyásolhatják a vizsgálati eredményeket:

- a preanalitikai hibák elsősorban a vizsgálatot megelőző mintavétellel, ill. a minta kezelésével (szállítás, tárolás, minta-előkészítés) kapcsolatosak;
- az analitikai hibák a vizsgálat végrehajtása során lépnek fel (pontosság, figyelmesség hiánya stb.);
- a posztanalitikai hibák hatása a vizsgálat utáni leletkiadással függ össze.

A biológiai tényezők közül az egyedek közötti (faj, fajta, ivar, kor) és az egyeden belüli (vemhesség, a takarmányfelvétel időpontja, gyógyszerhatás, napszaki ingadozás, narkózis, stresszhatás stb.) különbségekből adódó hatásokat kell figyelembe venni.

PREANALITIKAI HIBÁK

A preanalitikai hibák hatása elsősorban a mintavétellel kapcsolatosan érvényesül. A leggyakoribb hibaforrásokat és következményeiket az 1.2. táblázatban foglaljuk össze.

Preanalitikai hibaforrás	Következmény
Vérvételi eszközök (tompá, vékony vérvételi tű, víztől nedves, túl nagy vákuumra alkalmas fecskendő, nedves vérvételi cső)	Hemolízis
A vérvétel módja („pumpálás”; etetés utáni vérvétel, helytelenül megválasztott alvadésgátló)	Hemolízis, lipaemia, hyperglykaemia, használhatatlan minta
A vérminta szállítása (késedelmes érkezés a laboratóriumba, túl meleg vagy hideg hőmérséklet, rázkódás)	Hemolízis és/vagy koncentrációváltozás
A vérminta tárolása (helytelenül megválasztott hőmérséklet)	Koncentrációváltozás, hemolízis

1.2. táblázat.
A leggyakoribb preanalitikai hibaforrások és következményeik vérmintavétel esetén

A preanalitikai hibák következményei a laboratóriumi vizsgálat kivitelezése szempontjából hibaforrások, amelyek további következménye lehet a téves vizsgálati eredmény, esetleg az, hogy a vizsgálat végre sem hajtható.

A hemolízis és a lipaemia következményei. A vérmintavétel során elkövetett hibák leggyakoribb következménye a hemolízis és a lipaemia, ami több vizsgálatot lehetetlenné tesz. Gyakori és nehezen megoldható probléma, ha az ambuláns beteg állapotának távozása után derül ki, hogy a levett vérminta a vérvételi hiba miatt vizsgálatra alkalmatlannak bizonyul. Hasonlóan nehéz helyzetbe kerülhetünk, ha egy távoli állományban gyűjtünk vért laboratóriumi vizsgálatra, és csak a laboratóriumba visszaérve észleljük, hogy a plazma hemolizált. Ha már a mintavételkor kétségünk támad a vételi körülményeket illetően, akkor inkább vegyünk újabb mintát, vagy ha lehetséges, még az állapot jelenlétében centrifugáljuk le a vérmintát.

A hemolízis következtében a vérplazmában azoknak a véralkotóknak a mennyisége nő, amelyek koncentrációja jóval nagyobb az erythrocytákban, mint az extracelluláris térben. Ennek fordítottja, vagyis egy anyag kisebb vörösvérsejtbeli koncentrációja miatti hígulás csak elméletileg fordul elő, mivel a hemolízis általában nem olyan nagyfokú, hogy ez a jelenség bekövetkezhetne. A hemolízis másik kedvezőtlen hatása, hogy nagyon sok fotometriás mérést lehetetlenné tesz, mert a hemoglobin fényelnyelési maximuma hasonló sok mérendő anyagéhoz. A lipaemia a plazma jelentős zavarosodásával jár, ami ugyancsak zavarja (nem specifikusan) több plazmaalkotó laboratóriumi meghatározását. A hemolízis és a lipaemia következményeit az 1.3. táblázatban tekinthetjük át. A hemolízis ellen az 1.2. táblázatban felsorolt hibaforrások elkerülésével védekezhetünk. A hemolizált mintával *in vitro* nem tehetünk semmit, a mintavételt meg kell ismételni.

A lipaemia leggyakoribb oka a postprandialis (alimentaris) hatás, amely elkerülhető úgy, hogy az állattól legalább 12 órás éhezés után veszünk vért (é-

1.3. táblázat.
A hemolízis és a lipaemia hatása egyes plazmaösszetevőkre

Plazmaösszetevők	Hemolízis	Lipaemia
Ammónia	+	0
Anorganikus foszfát (P)	+	0
Enzimek (ALP, ALT, AST, CK, GGT, LDH)	+	0/-
Epesavak	+	+
Glükóz	-/0	+
Karbamid	+	0
Kálium	+/0	0
Kreatinin	+	+
Összbilirubin	+	+
Összfehérje	+	+
Összlipid	0	+

Jelmagyarázat: + a vizsgálati eredményt növeli, - csökkenti, 0 nincs hatása.

ként használatos, készen kapható speciális polimerek állatorvosi alkalmazhatóságával kapcsolatosan még csak kevés eredmény ismert. Az ultracentrifugálás feltisztítja ugyan a lipaemiás plazmát, de erre a gyakorlatban ritkán van lehetőség. A legegyszerűbb megoldás a lipaemiás plazma megfelelő mértékű hígítása ioncserélt (deminalizált) desztillált vízzel, és az eredmények korrigálása a hígítás mértékével. A plazma fagyasztása, majd felengedése és azután a kicsapódott lipidek eltávolítása ugyancsak sikerrel kecsegtethet.

Az alvadásgátlók hatása. A rosszul megválasztott alvadásgátlók ugyancsak gyakori preanalitikai hibaforrások.

Az 1.4. táblázatban látható, hogy a kémiai vizsgálatokat legkevésbé a heparin befolyásolja, ezért erre a célra heparinos plazmát (vagy alvadásgátló nélküli szérumot) használunk. A hematológiai vizsgálatokhoz (mennyiségi és minőségi vérkép) az EDTA, a véralvadás-vizsgálatokhoz a citrát a megfelelő alvadásgátló. Természetesen kivételek mindig vannak, ezért kétséges esetben

1.4. táblázat.
Az alvadásgátlók hatása egyes vizsgálati eredményekre

A vizsgált mutató	Heparin	EDTA	Citrát
Alkalikus foszfatáz (ALP)	-	+	+
Ammónia	+	-	+
γ -GT	-	-	+
Glükóz	-	-	+
Kalcium	-	+	+
Karbamid	+/-	-	-
Kreatinin	-	+	+
Mennyiségi vérkép	+	-	+
Minőségi vérkép	+	-	+
Véralvadás	+	+	-

Jelmagyarázat: + a vizsgálati eredményre hat, - nem hat.

ajánlatos a vizsgálato-
kért felelős laboratóriumi szakembertől megtudakolni, hogy milyen alvadásgátlóval kéri a mintavételt. A gyári reagenskészleteken kötelező feltüntetni, hogy az adott vizsgálathoz milyen plazmát használunk. Nagyon ritkán (pl. bilirubinméréshez) csak vérszérum javasolható.

Az alvadásgátlók használatával kapcsolatban gyakran felmerül a kérdés: szérumot vagy plazmát használjunk-e a biokémiai mérésekhez? A szérum és a plazma közötti alapvető különbség, hogy utóbbiban jelen van a fibrinogén. A plazmából végzett vizsgálatok során nemcsak arra kell ügyelnünk, hogy a legmegfelelőbb alvadásgátlót válasszuk ki, hanem azt is figyelembe kell vennünk, hogy a fibrinogénnek van-e hatása a tervezett vizsgálatra. Szerencsére ezzel a hatással csak nagyon ritkán kell számolnunk (pl. bilirubin mérésekor), azt azonban gyakran tapasztaljuk, hogy a fagyasztva tárolt plazma a felengedéskor részleges fehérjekicsapódást mutat. Ilyen esetben a plazma ismételt centrifugálása elengedhetetlen.

A „szérum vagy plazma?” kérdés megválaszolásához a következő megfontolások figyelembevétele indokolt:

- a legtöbb vizsgált jellemző plazma- és szérumbeli koncentrációja nem különbözik jelentősen. A szérum kedvezőtlen, ún. biológiai mátrixhatása kisebb, mint a plazmáé;
- a szérum nyérése időigényes művelet, bár a szérumkiválás ideje alvadásgyorsítókkal (szérumszeparátoros vérvételi csövekkel) csökkenthető;
- szérum nyérése esetén fokozott a hemolízis veszélye, főleg akkor, ha a csőben a véroszlop falhoz tapadt tetejét körbevágással elválasztjuk a cső falától a szérum kiválásának gyorsítására;
- ha üvegcső (centrifugacső) helyett sima falú műanyag kémcsőben kísérjük meg a szérum nyérést (ami egyébként olcsó lenne), a vér esetleg meg sem alvad, a szérum ki sem válik.

Az előbbieket összegezve: általában plazma nyéréseire törekedjünk.

A vérmintavétel időpontjának hatása. Az etetés utáni felszívódási folyamatok jelentős postprandialis (alimentaris) hatásokkal járnak, mint pl. a jól ismert hyperglykaemia és hyperlipaemia. Monogastrius állatokban az éhgyomri (12 óras éheztetés utáni, célszerűen kora reggeli) mintavétel a leginkább ajánlott. Amennyiben ez nem teljesíthető, legalább 4-6 óra teljen el az utolsó etetés és a vérvétel között.

A mintatárolás (szállítás) hőmérsékletének hatása. A biológiai mintákban a mérendő alkotók mennyisége a mintavétel pillanatától kezdve különböző sebességgel változik (általában csökken). Ezt a változást kis hőmérsékleten való tárolással lassíthatjuk, de előbb-utóbb minden anyag bomlására számítanunk kell. Egyes anyagok viszont éppen a tárolás során keletkeznek, és koncentrációjuk a mintában bizonyos ideig nőni fog. A különböző anyagok stabilitásának ismerete a meghatározások ideális időpontjának kiválasztása szempontjából fontos. Az 1.5. táblázatban összefoglaltuk, hogy egyes szérum-, ill. plazmaalkotók vizsgálatát megelőzően mennyi ideig tárolható a minta a különböző hőmérsékleteken. A megadott időtartamok akkor érvényesek, ha a szérumot (plazmát) a mintavételt követően elkülönítjük az alkos elemektől.

A vizsgálandó mutató	Tárolási hőmérséklet		
	Szobahőmérséklet	Hűtés (+4...+8 °C)	Fagyasztás (-20 °C)
Alkalikus foszfatáz (ALP)	7 nap után -10%	7 nap	7 nap
ALT	2 nap	3 nap	7 nap
Ammónia (EDTÁ-s plazma!)	Nem tárolható	2 óra	Nem fagyasztható
AST	2 nap	3 nap	7 nap
Bilirubin	Csak friss mintából! Nem tárolható		
CK	1 nap	7 nap	2-3 hét
γ -GT	7 nap	7 nap	2 hét
Glükóz (fehérjeemésítés után)	4 óra	3 nap	10 nap
Kalcium	10 nap	10 nap	6 hónap
Karbamid	1 nap	3 nap	6 hónap
Kálium	2 hét	2 hét	Néhány hét
Koleszterin	6 nap	6 nap	6 hónap
Kreatinin	4-6 óra	1 nap	6 hónap
Összfehérje	6 nap	6 nap	10 nap
Összlipid	1 nap	3 nap	Néhány hét

Megjegyzés: a hemoglobinkoncentráció teljes vérből 24 órán belül meghatározandó.

1.5. táblázat.
A minta tárolhatósága egyes szérum-, ill. plazmaalkotók esetén

ANALITIKAI HIBÁK

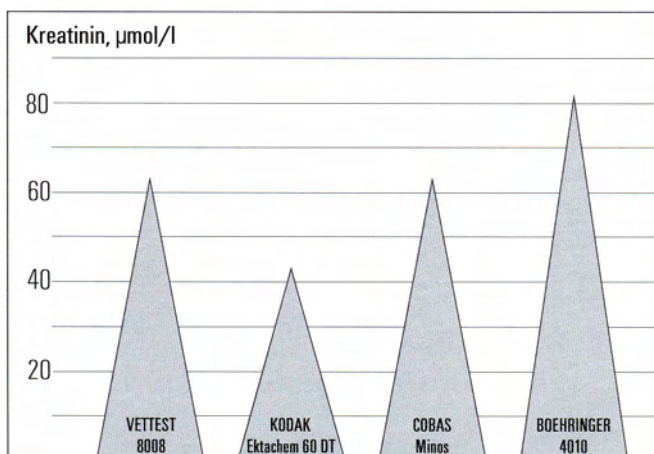
A laboratóriumi vizsgálatok során megfelelő reprodukálhatósággal (precizitással, pontosan), megbízhatóan, azaz rendszeres (szisztematikus) hibák nélkül (torzításmentesen) kell dolgozni. Figyelembe kell venni azt is, hogy a mérendő jellemző várható értéke beleesik-e az alkalmazott módszer lineáris méréstartományába. A jelentős hibákat a minőség-ellenőrzés folyamatában kell kiküszöbölni (☞ 34. o.). Ezeket az elveket nemcsak a jól felszerelt laboratóriumokban végzett bonyolult vizsgálati eljárások kivitelezése során kell követni, hanem a gyakorló állatorvos rendelőjében, a legegyszerűbb vizsgálatok végrehajtásakor (pl. tesztcsíkok használatakor) is.

Az alkalmazott vizsgálati módszerek különbözősége miatt sajnos a különböző laboratóriumok eredményei egymástól eltérhetnek, és így a leletek a laboratóriumra jellemző, ún. laborspecifikus értékeket tartalmazhatnak. Az is előfordulhat, hogy ugyanattól a laboratóriumtól kapunk eltérő eredményt: nem mindegy, hogy a vizsgálatot szárazkémiai automatával vagy nedveskémiai eljárást követő spektrofotometriás módszerrel végezték-e. Mint tudjuk, a szárazkémiai analizátorok egy része teljes vért (is) analizál, más részük csak vérplazmát vagy -szérumot. A teljes vérből származó eredmény is lényegében plazmaeredményt jelent, hiszen a szárazkémiai analizátorok reagens-

csíkjain egy szűrőréteg visszatartja az alakos elemeket, és a reagenszónára csak a plazma jut. Emiatt a minta hematokritértéke befolyásolja a kapott eredményt.

A felsorolt módszerek különbözősége az oka annak, hogy minden laboratórium (akár orvosi, akár állatorvosi) a saját eredményeit részesíti előnyben, és a klinikusok is ragaszkodnak ugyanazon laboratórium igénybevételéhez.

Egy adott laboratóriumra jellemző, még inkább „műszer-/módszer-specifikus” eredményeket mutat az 1.9. ábra, amelyen tizenegy kutya vérplazmájának kreatininkoncentrációját négy különböző készüléken határoztuk meg.



1.9. ábra. Különböző elven működő automaták kreatinineredményei 11 kutya vérplazmájában

POSZTANALITIKAI HIBÁK

Idetartoznak a leletkiadással és -azonosítással kapcsolatos adminisztrációs hibák, valamint a kapott lelet értelmezésével összefüggő hibaforrások.

A BIOLÓGIA TÉNYEZŐK HATÁSA

Az egyedek közötti különbségek hatása. Idetartoznak a faj, a fajta, az életkor, az ivari különbségek miatt kialakuló, általában élettani eltérések. A teljesség igénye nélkül néhány példa:

- fiatal állatokban nagyobb a plazma alkalikusfoszfatáz-aktivitása (ALP), mint idősebb társaikban;
- a csak húson tartott kutya/macska vérplazmájában nagyobb az anorganikus foszfát (P) mennyisége, mint a vegyes étrenden tartott egyedekben;
- idősebb állatokban nagyobb a hematokritérték és az összfehérje mennyisége, mint a fiatalabbakban;
- akita fajtájú kutyákban kisebb a vörösvérsejtek mérete (MCV), mint más fajtákban;
- a szexuálhormonok koncentrációi érthetően eltérnek a hím- és a nőnemű egyedek között.

Az ilyen hatások száma meghatározhatatlan, és fontos szerepük van abban, hogy az élettani érték, ill. értéktartomány (referenciatartomány) fogalmát miért nehéz meghatározni. (A humánorvosi laboratóriumi diagnosztikában

már külön referenciatartományokat adnak meg újszülöttekre, gyermekekre, felnőtt nőkre és férfiakra vonatkozóan.)

Az egyeden belül érvényesülő hatások. Idetartoznak az eltérő takarmányozás, a vemhesség, a gyógyszeres kezelések, a stressz, a narkózis hatásaira kialakuló átmeneti vagy tartós, de nem kóros eltérések. Néhány példa:

- az ellést követően csökken a vér Ca-tartalma;
- a vemhes állatok hematokritértéke kisebb, mint a nem vemheseké;
- abrakintenzív takarmányozási körülmények mellett kérődzőkben más az illózsírsavak bendőbeli aránya, a bendőfolyadék és a vizelet pH-értéke, mint a főleg tömegtakarmányt fogyasztóké;
- glükokortikoidhatásra (stresszállapotban, Cushing-betegségben vagy terápiás beavatkozáskor egyaránt) tartósan vagy átmenetileg nő a vérglükóz mennyisége;
- a xilazin drasztikusan, átmenetileg ugyancsak növeli a vérglükózsztintet;
- altatás következtében a hematokritérték csökken.

Végső soron a betegségek következtében kialakuló különbségek is az egyeden belül érvényesülő, de kóros hatásra kialakuló eltérésnek tekinthetők.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS A LABORATÓRIUMI MUNKÁBAN

A GLP (*good laboratory practice*) szemlélete arra ösztönzi a laboratóriumokat, hogy a tőlük függő hibákat megszüntessék, de legalábbis a lehető legkevessebbre csökkentsék. Ez a minőség-ellenőrzés révén valósítható meg.

A minőség-ellenőrzés a rutinszerűen dolgozó laboratóriumok kötelezettsége az alkalmazott módszerek tekintetében: külső és belső ellenőrzési rendszert kell kialakítanunk. Mindkét vizsgálati rendszert elsősorban a vérszérum-, ill. vérplazma-összetevők mérését megalapozó módszerek ellenőrzésére alkalmazzuk, de ajánlott a haemostasis- vagy a vizeletvizsgálati módszerek ellenőrzése is.

A *külső minőségbiztosítás (-ellenőrzés)* olyan nemzetközi vagy országos körvizsgálatot jelent, amelyben több laboratórium kap egy számára ismeretlen összetételű mintát, azt a laboratórium rutineljárásai szerint megméri, és az eredményeket egy laboratóriumközi egyeztetett statisztikai rendszerben értékeli ki. Ilyen körmintavizsgálat Magyarországon jelenleg az állatorvosi laboratóriumok részére nem létezik, néhány laboratórium azonban önkéntesen részt vesz hazai, ill. nemzetközi orvosi laboratóriumok részére rendezett összehasonlító vizsgálatokban. A működő orvosi laboratóriumok ellenőrzésére kijelölt intézmény, az Országos Laboratóriumi Intézet kötelezően és rendszeresen szervez külső kontrollvizsgálatokat. Működési engedélyt (akkreditációt) csak az az orvosi laboratórium kaphat, amelyik rendszeresen megfelel a külső körmintavizsgálatokon. Az állategészségügyben is

várható, hogy a laboratóriumi diagnosztikai munkához a jövőben engedélyt kell kérni, a klinikai tevékenység szakmai engedélyeztetéséhez/működtetéséhez hasonlóan. Csak akkreditált laboratóriumnak volna szabad leletet kiadnia (felhasználnia), és ez biztosítaná, hogy a különböző laboratóriumokból származó eredmények egymással összevethetők legyenek.

A *belső minőség-ellenőrzés* a laboratóriumi feladatokat ellátó valamennyi egység (állatorvosi klinikai szaklaboratóriumok, a gyakorló állatorvos saját laboratóriuma) erkölcsi kötelessége. Sajnálatos, hogy ezt törvény nem szabályozza, ill. szakmai ellenőrzése sem megoldott. A nem ellenőrzött laboratóriumok a minőségi ellátás követelményeinek nem képesek megfelelni.

A *belső minőség-ellenőrzés* a legszűkebb értelemben a laboratóriumban alkalmazott módszerek folyamatos értékelését (validálását) jelenti. Kifejezője annak az erőfeszítésnek, amelynek célja a mért jellemzők folyamatos felülvizsgálata, az ismételt vizsgálatok állandó értéken tartása, a hibák csökkentése. Sajnos sok esetben a szakmai igénytelenség és a rosszul értelmezett takarékoság oda vezet, hogy a minőség-ellenőrzést felelőtlenül elhanyagolják.

Az ellenőrzés során vizsgálandó jellemzők: a *reprodukálhatóság* (precizitás, pontosság), a *megbízhatóság* (a valós értékektől való eltérés, torzítás), a *specifikusság* és az *érzékenység*. Ismertetjük továbbá a *linearitási intervallum* meghatározását, valamint az újonnan bevezetett és a korábban használt (vagy referencia-) módszer *összefüggésvizsgálatát* is (a korreláció meghatározása).

A reprodukálhatóság (precizitás, pontosság). A mérés szinte legfontosabb jellemzője a reprodukálhatóság, vagyis a kivitelezéskor fellépő *véletlen hibák* mértéke. A véletlen hibák elkerülhetetlenek, a pillanatnyi figyelmetlenség, az eszközök (pipetta vagy spektrofotométer) saját hibái állnak a háttérükben. Bár a véletlen hibák nem küszöbölhetők ki teljesen, mégis törekednünk kell arra, hogy mértéküket a lehető legkisebbre csökkentsük.

A reprodukálhatóságot meghatározhatjuk azonos minta nagyszámú ismételt mérésével, ahol lényegtelen, hogy a vizsgálandó anyag milyen koncentrációban van jelen. Nagyszámú független mérés esetén a mérési eredmények átlaga közelít a valódi értékhez. Az eredményeket a következő összefüggések alapján értékelhetjük: a mérési eredmények

- átlaga, \bar{x} (középérték);
- szórása, s (az egyes mérések átlaghibája);
- relatív szórása, s_r (variációs koefficiens, az egyes mérések relatív átlaghibája, %): $s_r = 100s/\bar{x}$.

A reprodukálhatóság, pontosság akkor jó, ha a mérések szórása, ill. relatív szórása (vagyis a középértéktől való eltérésük) kicsi. A megengedhető s_r -érték a klinikai kémiában szubsztrátok mérésekor $< 5\%$, enzimaktivitási és ELISA-módszerek esetén $< 10\%$. Automata analizátorok esetében az előbbieknél jóval kisebb variációs koefficienssekkel számolunk.

A megbízhatóság (torzítás). Ha van összehasonlító, ún. *deklarált* értékünk (pl. gyári kontrollsavót használunk, amin feltüntették a célértéket, más néven az ún. „kell”-értéket), akkor az ismételt mérési eredményekből meghatározhatjuk a módszer *megbízhatóságát* (torzítását), ami a mérések *rendszeres* (szisztematikus) hibáját tükrözi. A mérés rendszeres hibája több forrásból származhat: ha a minta beméréséhez használt automata pipettát rosszul állítjuk be, vagy a spektrofotometriás mérést nem az előírt hőmérsékleten vagy hullámhosszúságon hajtjuk végre, akkor minden mérésünk következetesen torzít, azaz egy irányban tér el a célértéktől („föle” vagy „alá” mérünk). Az

$$\text{abszolút eltérés (torzítás)} = X_{\text{mért}} - X_{\text{deklarált}}$$

ahol $X_{\text{mért}}$ a kontrollsavó mérési eredményeinek középértéke legalább 10 ismétlés alapján; $X_{\text{deklarált}}$ a kontrollsavó ismert célértéke.

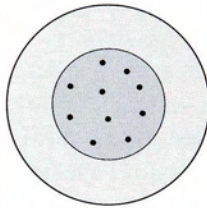
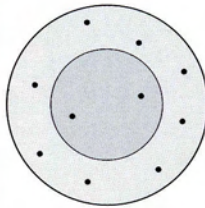
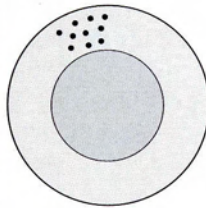
A torzítás mértékét %-ban is megadhatjuk:

$$\text{relatív eltérés (megbízhatósági index)} = \frac{X_{\text{mért}} - X_{\text{deklarált}}}{X_{\text{deklarált}}} \cdot 100.$$

A klinikai kémiában a torzítás elfogadható mértéke szubsztrátmeghatározás esetén < 5%, enzimaktivitások mérésekor < 5–10%. A gyakorlatban minden laboratórium törekszik a rendszeres hibák megszüntetésére, s ezáltal a torzítás mértékének csökkentésére.

A véletlen és a rendszeres hibákat szemlélteti a 1.10. ábra.

1.10. ábra.
„Céltábla”-rajz tíz ismételt mérési eredményeivel, a véletlen és a rendszeres hibákkal
Forrás: Büttner-Hansert-Stamm, 1974

A hiba típusa	„Hibátlan”	Véletlen hiba	Rendszeres hiba
			
Pontosság	Optimális	Rossz	Jó
Megbízhatóság	Optimális	Jó	Rossz

A specifikusság. Egy mérési módszer akkor specifikus, ha kizárólagosan a vizsgált alkotót méri. Például a vér- vagy a vizeletglükózt korábban redukciós módszerekkel határozták meg, amelyek egyéb redukálóanyagokat (aszorbinsav, antibiotikumok) is mértek, s emiatt hamis pozitív eredményt

adtak. Később terjedtek el a különböző szubsztrátok mérésére a specifikus (pl. enzimatis) reakciók. Bár e módszerek költségesebbek, alkalmazásuk szakmai szempontok alapján szélesebb körben indokolt.

A specifikusság nem számszerűsíthető, és egy új módszer bevezetésekor az interferenciajelenségek kizárását (vagy elhanyagolható voltát) szigorú elméleti és mérési bizonyítékokkal kell megerősíteni. A gyári reagensek készleteket ezeknek a követelményeknek a figyelembevételével dolgozták ki.

Az érzékenység. Egy módszer érzékenysége azzal a legkisebb koncentrációértékkel fejezhető ki, amely esetén az adott alkotó legkisebb mennyisége reprodukálhatóan mérhető. (Spektrofotometriás mérés esetében általában $\Delta A=0,010$ abszorbanciaértékhez tartozó koncentrációérték.)

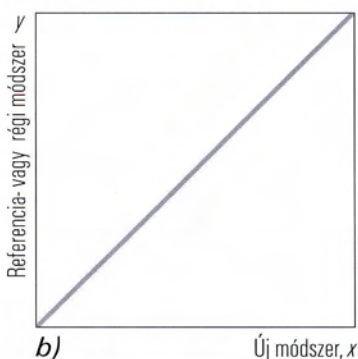
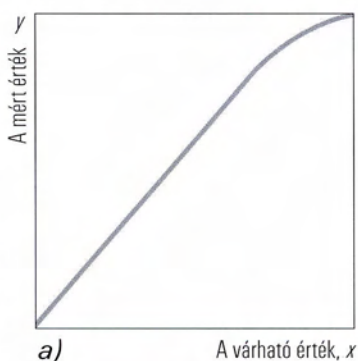
A referenciamódszer. Egy adott alkotó mérésére elfogadott több (esetleg eltérő mérési elven alapuló) módszer közül az a referenciamódszer, amelyre az előbbi jellemzők a legkisebb értéket adják. Kívánatos lenne, hogy minden laboratóriumban csak ilyen módszerekkel dolgozzanak.

Új módszer bevezetése. A laboratóriumban alkalmazandó új módszert linearitásvizsgálatnak vetjük alá. Ismert koncentrációjú mintából 5–7 hígítást készítünk, és a mért értékeket összevetjük a várható értékekkel (1.11a ábra).

A módszer abban a várhatóérték-tartományban lineáris, ahol a mérési pontokból számított korrelációs együttható (r) értéke a +1,00 értékhez közel esik, az adatokból nyert egyenes az origóhoz tart (az $y = a + bx$ egyenletben az a értéke közelítőleg 0), és iránytangense (a b -érték) közelítőleg 45° .

Az új módszer használhatóságát a régi módszer vagy a referenciamódszer alkalmazásával mért értékek korrelációja alapján ítéljük meg. Az összefüggés-vizsgálatot nagyszámú, véletlenszerűen összeállított, de jelentős koncentrációtartományt átfogó mintahalmaz mérésével végezzük el (1.11b ábra).

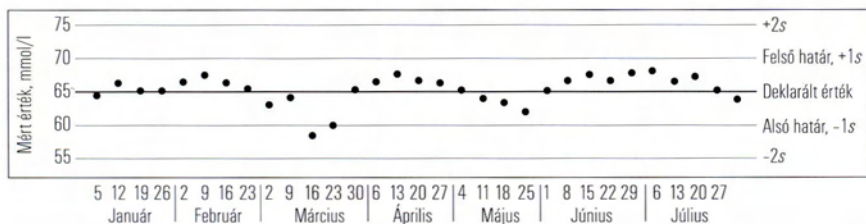
Minél közelebb esik a két módszerrel mért értékekből számított korrelációs együttható (r) értéke +1,00-hoz, ill. ha megbízható egyenletet illeszthetünk a mérési pontokhoz, annál megbízhatóbb eredmények reményében dolgozhatunk az új módszerrel.



A regressziós egyenlet: $y = a + bx$,
ahol a a regressziós állandó,
 b a regressziós koefficiens
(az egyenes iránytangense)

1.11. ábra.
Új módszer bevezetése
a) az új módszer linearitásvizsgálata;
b) a referenciamódszer és az új módszer eredményeinek összevetése

1.12. ábra.
A mérési eredmények
ábrázolása kontroll-
kártyán



Kontrollkártya. A laboratóriumban rutinszerűen alkalmazott vizsgálati módszerek statisztikai jellemzőit a belső minőség-ellenőrzési rendszer keretében – ismert összetételű gyári – kontrollsavókkal rendszeresen, pl. hetente mérjük. A mérési eredményeket az ún. kontrollkártyán ábrázoljuk (1.12. ábra).

A rutinmódszerrel végrehajtott mérések eredményei addig elfogadhatók (addig van a módszer „kontroll alatt”), amíg a kontrollsavó deklarált értékéhez képest

- egy mért érték sem esik a $\pm 2s$ szórásartományon kívül;
- hétnél kevesebb pont esik a célértékvonal fölé vagy alá;
- hétnél kevesebb egymást követő pontot összekötő vonal mutat egy irányban emelkedést vagy csökkenést.

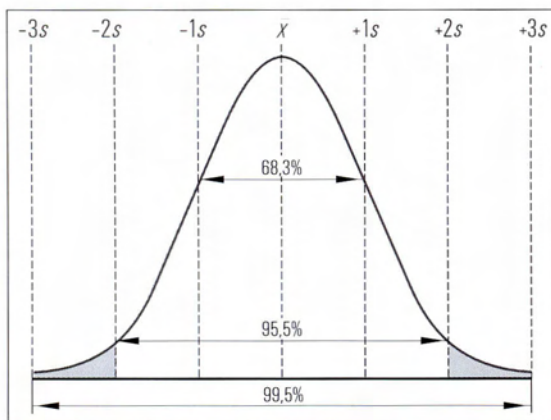
Ellenkező esetben a módszer kivitelezésének minden mozzanatát előírászerűen felül kell vizsgálni, mert a módszer „kívül van a kontrollon”.

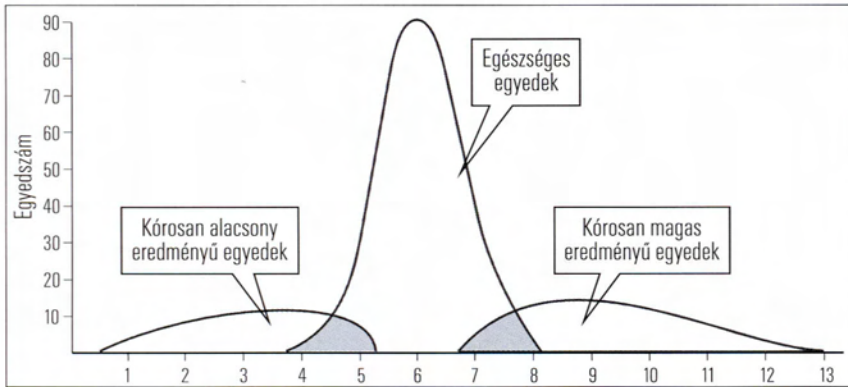
A „normálérték” és a referenciaintervallum. A laboratóriumi mérések eredményeit az adott jellemzőre vonatkozó módszer normálértékei és referenciaintervalluma (referenciartomány) ismeretében értékeljük ki. A *normálérték* nagyszámú mérésből számított számtani közép- vagy átlagérték. Sok laboratóriumi szakember elutasítja a normálértéket, mivel azt nagyon sok tényező (biológiai, analitikai) befolyásolja. Helyesebbnek tartják a referenciaintervallum alkalmazását, ami a populációra jellemző középérték (átlagérték) körül $\pm 2s$ szórásartománnyal megszabott értéktartományt jelöli. A középértéket

nagyszámú egészséges egyeden állapítják meg. Egy véroösszetevő mérési eredményei egészséges populációban normális eloszlást (Gauss-görbe) követnek (1.13. ábra).

Egészséges populáció vizsgálati eredményeinek 95%-a a referenciartományba ($\pm 2s$) esik. Ily módon az egészséges egyedek mérési eredményeinek 5%-a (az ábrán

1.13. ábra.
Egészséges állat-
populációban mért
laboratóriumi átlag-
érték körüli meg-
oszlás a $\pm 1s$, $\pm 2s$ és
 $\pm 3s$ tartományban





1.14. ábra.
Egészséges és kóros
állapotra utaló labo-
ratóriumai értékek
megoszlása
egy populáción belül

a szürke terület) viszont kívül esik a referenciatartományon (az egészséges egyedek 5%-át elméletileg kóros állapotúnak kellene minősítenünk!).

Az 1.14. ábra egy elméleti laboratóriumi paraméter előfordulását mutatja egy állatállományban, amelyben egészséges és kóros értékek egyaránt találhatóak. Az átfedést a szürke területek mutatják. Az ábrán jól érzékelhető az az átfedés, ami a kórosan kicsi és nagy értékek, valamint az élettani tartomány alsó és felső része között mutatkozik. Az ide eső értékek elbírálása gyakran okoz nehézséget, hiszen nem lehet kimondani, hogy biztosan kóros értékről van-e szó. Mindez azt bizonyítja, hogy a referenciatartomány határértékeinél alig kisebb vagy nagyobb laboratóriumi eredményt ne minősítsünk elhamarkodottan, azt sohasem szabad túlzóan értékelni.