WIESŁAW KRUMRYCH, JANUSZ DANEK

Zastosowanie analizatora biochemicznego Kodak Ektachem DT 60 System w diagnostyce laboratoryjnej u koni

Zakład Chorób Koni Bydgoskiego Oddziału Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach, Al. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Szybki rozwój diagnostyki laboratoryjnej w ostatnich dziesięcioleciach niejako wymusił automatyzację oznaczeń wielu wskaźników hematologicznych i biochemicznych. Przyczyniła się ona niewątpliwie do wyraźnego ograniczenia pracochłonności, jak również zwiększenia precyzji wykonywanych analiz. Automatyczne analizatory biochemiczne przy zastosowaniu coraz to nowych technik pomiarowych oraz dzięki postępowi w technologii mikroprocesorów, umożliwiają oznaczenie wielu wskaźników w bardzo krótkim czasie.

Istnieje bardzo wiele metod automatycznego oznaczania wskaźników biochemicznych. Jedną z nich wprowadziła w ostatnich latach firma Kodak. Polega ona na zastosowaniu filmu jako podłoża z umieszczonymi na nim w kilku warstwach odczynnikami chemicznymi, niezbędnymi do przeprowadzenia odpowiednich reakcji. Technika ta nosi nazwę „suchej chemii". Konstrukcja niewielkiej (2,7 × 2,3 cm), cienkiej błony fotograficznej umożliwia przeprowadzenie różnego typu reakcji: kolorymetrycznych punktu końcowego, kinetycznych i enzymatycznych w oparciu o test optyczny. Inna jest natomiast budowa filmów analitycznych do potencjometrycznych oznaczeń zawartości elektrolitów. Zasada polega na utworzeniu w trakcie analizy dwóch półogniw. Styki niklowe analizatora umożliwiają pomiar różnicy potencjału między półogniwem zawierającym badaną próbę a drugim zawierającym roztwór referencyjny (1-3).

Używany w naszym Zakładzie aparat nosi nazwę Kodak Ektachem DT 60 System (ryc. 1) i jest przeznaczony dla małych i średnich laboratoriów (wydajność – do 100 testów/1 godzinę). Integralną częścią tego układu jest analizator DT 60 z wbudowanym mikrokomputerem, który steruje jego funkcjami. Dane i polecenia wprowadzane są przez klawiaturę lub za pomocą kodów paskowych znajdujących się na slajdach. Komunikaty i wyniki są przedstawiane na ciekłokrystalicznym wyświetlaczu lub drukowane. Aparat, dzięki odpowiednim slajdom, umożliwia pomiar zawartości amoniaku (NH_3), amylazy (AMYL), cholesterolu (CHOL), frakcji HDL cholesterolu (HDLC), bilirubiny całkowitej (TBIL), białka całkowitego (TP), glukozy (GLU), hemoglobiny (HB), kwasu moczowego (URIC), mocznika (UREA), kreatyniny (CREA), trójglicerydów (TRIG), mleczanów (LAC), magnezu (Mg) oraz fosforu nieorganicznego (PHOS). Dzięki dwóm dodatkowym modułom (DTSC i DTE) można znacznie zwiększyć zakres przeprowadzanych analiz. Moduł DTSC umożliwia oznaczenie aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AST) i alaninowej (ALT), fosfatazy zasadowej (ALKP), esterazy cholinowej (CHE), dehydrogenazy mleczanowej (LDH), kinazy kreatynowej (CK) i gamma-glutamylotransferazy (GGT), a ponadto zawartości albumin (ALB), lipazy (LIPA), wapnia (Ca), żelaza (Fe) i litu (Li). Z kolei moduł DTE służy do potencjometrycznych oznaczeń stężenia dwuwęglanów (CO_2), sodu (Na), potasu (K) i chlorków (Cl).

Ryc. 1. Analizator biochemiczny Kodak Ektachem DT 60 System

Należy zaznaczyć, że pomimo bardzo bogatej oferty wykonywanych analiz, możliwości aparatu w tym względzie są sukcesywnie wzbogacane przez producenta dzięki wprowadzaniu nowego oprogramowania oraz slajdów.

Analizator odznacza się szerokim zakresem pomiarowym wymienionych wskaźników biochemicznych (tab. 1). Dzięki temu możliwe jest wykorzystanie tego urządzenia nie tylko u ludzi, ale również, jak wykazały wstępne badania zlecone przez producenta, u wielu gatunków ssaków, ptaków, gadów i ryb (4).

Aparat zasadniczo przeznaczony jest do wykonywania ilościowych testów analitycznych w surowicy, osoczu heparynowym i krwi pełnej (Hb). Wydaje

Tab. 1. Zakresy pomiarowe wartości wskaźników biochemicznych analizatora Kodak Ektachem DT 60 System (1)

Wskaźnik		Zakres pomiarowy	Jednostka
Sód	(Na)	95–215	mmol/l
Potas	(K)	1,0–11,0	mmol/l
Wapń	(Ca)	0,75–3,49	mmol/l
Magnez	(Mg)	0,08–2,88	mmol/l
Fosfor nieorganiczny	(PHOS)	0,16–4,20	mmol/l
Chlorki	(Cl)	65–140	mmol/l
Żelazo	(Fe)	1,8–89,6	µmol/l
Lit	(Li)	0,2–4,0	mmol/l
Dwuwęglany	(CO_2)	5–50	mmol/l
Amoniak	(NH_3)	1–500	µmol/l
Cholesterol	(CHOL)	0,91–8,40	mmol/l
Frakcja HDL cholesterolu	(HDLC)	0,03–2,84	mmol/l
Kreatynina	(CRSC)	4–1459	µmol/l
Trójglicerydy	(TRIG)	0,17–4,52	mmol/l
Mleczany	(LAC)	0,5–12,0	mmol/l
Mocznik	(UREA)	0,4–35,7	mmol/l
Kwas moczowy	(URIC)	18–952	µmol/l
Glukoza	(GLU)	1,1–25,0	mmol/l
Hemoglobina	(Hb)	3,1–12,4	mmol/l
Albuminy	(ALB)	10–60	g/l
Białko całkowite	(TP)	20–110	g/l
Bilirubina całkowita	(TBIL)	1,71–342	µmol/l
Amylaza	(AMYL)	5–900	U/l
Lipaza	(LIPA)	10–2000	U/l
Aminotransferaza asparaginianowa	(AST)	4–950	U/l
Aminotransferaza alaninowa	(ALT)	3–950	U/l
Esteraza cholinowa	(CHE)	200–12 500	U/l
Fosfataza zasadowa	(ALKP)	15–1500	U/l
Kinaza kreatynowa	(CK)	20–1600	U/l
γ-glutamylotransferaza	(GGT)	5–1400	U/l
Dehydrogenaza mleczanowa	(LDH)	100–1750	U/l

się jednak, że materiałem badawczym mogą być także i inne płyny ustrojowe. Z powodzeniem oznaczaliśmy bowiem stężenie mocznika i kreatyniny oraz aktywność niektórych enzymów (AST, LDH i ALKP) w osoczu nasienia ogierów.

Obsługa systemu analitycznego Kodak Ektachem DT 60 jest bardzo prosta i sprowadza się do umieszczenia slajdu w odpowiednim urządzeniu pomiarowym i naniesieniu automatyczną pipetą dozującą 10 µl badanego materiału. Po upływie maksimum 5 minut wydrukowany zostaje wynik. Analizator wymaga kalibracji jedynie co 6 miesięcy i jest gotów do pracy już po około 20 minutach od włączenia. Stosunkowo długi okres trwałości slajdów (18 miesięcy) stanowi dodatkowe udogodnienie.

W celu wstępnego określenia przydatności analizatora Kodak Ektachem DT 60 w diagnostyce laboratoryjnej u koni, wykonano oznaczenia wybranych wskaźników w surowicy krwi. Badania przeprowadzono na 20 klinicznie zdrowych koniach różnych ras (konie wielkopolskie – 10 szt., koniki polskie – 6 szt., kuce szetlandzkie – 4 szt.) pochodzących z kilku ośrodków hodowlanych. Zwierzęta nie były również wyrównane pod względem płci (8 klaczy, 9 ogierów i 3 wałachy) oraz wieku (od 2 do 24 lat).

Krew do oznaczeń pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej, zawsze w godzinach rannych. Po odwirowaniu krwi, uzyskaną surowicę zamrażano w temp. około -20°C. Analizy wykonywano w czasie do 24 godzin od momentu pobrania krwi. Oznaczenia stężeń wskaźników oraz aktywności enzymów przeprowadzano w temperaturze 37°C (analizator DT 60 oraz moduł DTSC). Jedynie analizy potencjometryczne (moduł DTE) przebiegały w temp. 25°C.

Tab. 2. Wartości niektórych wskaźników biochemicznych w surowicy krwi u koni (n = 20)

Oznaczony wskaźnik		$\bar{x} \pm s$
Na	(mmol/l)	137,63 ± 13,40
K	(mmol/l)	3,59 ± 0,58
Cl	(mmol/l)	106,07 ± 5,76
CO_2	(mmol/l)	27,07 ± 3,37
TP	(g/l)	65,40 ± 5,38
TBIL	(µmol/l)	22,13 ± 7,02
CHOL	(mmol/l)	2,54 ± 0,62
CRSC	(µmol/l)	120,93 ± 23,65
LAC	(mmol/l)	7,57 ± 1,10
UREA	(mmol/l)	5,31 ± 1,95
URIC	(µmol/l)	< 18,0
TRIG	(mmol/l)	< 0,17
AST	(U/l)	356,83 ± 64,27
ALT	(U/l)	7,47 ± 3,69
ALKP	(U/l)	256,41 ± 74,01
GGT	(U/l)	38,65 ± 13,47
CK	(U/l)	291,62 ± 124,23
LDH	(U/l)	1376,67 ± 274,65

Średnie wartości wybranych wskaźników biochemicznych w surowicy krwi badanych koni zestawiono w tab. 2. Wskazują one na możliwość oznaczania wielu parametrów biochemicznych w surowicy krwi u koni. Kilkakrotne analizy tego samego materiału wykazały bardzo dobrą powtarzalność uzyskiwanych wyników. Jedynie stężenia kwasu moczowego (URIC) oraz trójglicerydów (TRIG) wykraczały poza dolną granicę zakresu pomiarowego (odpowiednio: < 18 µmol/l oraz < 0,17 mmol/l). Ocena zawartości tych składników w omawianym materiale była zatem przy użyciu analizatora niemożliwa. Należy również zwrócić uwagę na fakt, że średnia aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT) w surowicy krwi jest niewiele wyższa od dolnej granicy zakresu pomiarowego (3 U/l). W pojedynczych przypadkach analizator informował, że aktywność tego enzymu była poniżej jego wartości granicznej. Konie są gatunkiem charakteryzującym się stosunkowo dużą aktywnością dehydrogenazy mleczanowej (LDH). U niektórych spośród badanych zwierząt stwierdzano wyższe wartości tego enzymu aniżeli analizator mógł oznaczyć (> 1750 U/l). Zachodziła wówczas konieczność rozcieńczenia surowicy w celu uzyskania wartości liczbowej.

Reasumując należy stwierdzić, że pomimo wykazanych wyżej niedogodności (aparat zasadniczo przeznaczony jest do diagnostyki klinicznej ludzi), Kodak Ektachem DT 60 System jest urządzeniem niezwykle pomocnym w ocenie zawartości wielu wskaźników biochemicznych u koni. Analizator umożliwia stałą i precyzyjną kontrolę fizjologicznych zmian omawianych parametrów krwi, ich wahań podczas choroby oraz monitorowanie efektów terapii. Przypuszczać należy, że najbliższa przyszłość zdecyduje o przewadze automatycznych analizatorów biochemicznych posługujących się techniką „suchej chemii" nad innymi rodzajami analiz i ich obecności w laboratoriach weterynaryjnych.

Piśmiennictwo

1. Kodak Ektachem DT System. Test methodologies for „in vitro" diagnostic use. Mat. informacyjne.
2. *Przybyłowicz E. P.*: Diagn. Lab. 29, 363, 1993.
3. *Scholz U., Hirschberger J.*: Tierärztl. Prax. 17, 327, 1989.
4. Veterinary Reference Guide. A Summary of Reference Intervals for use with Kodak Ektachem Products. Mat. informacyjne.

Adres autora: dr Wiesław Krumrych, ul. Juhasów 4/14, 85-792 Bydgoszcz

Wydawnictwa PTNW

Redakcja „MW" dysponuje jeszcze egzemplarzami książki:

Maria Prost: „Choroby ryb" – cena 15,– zł

Wysyłka pocztowa wraz z fakturą – po przesłaniu zamówienia na adres:

Redakcja „Medycyny Weterynaryjnej"
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

lub telefonicznie pod nr: (0-81) 537-66-76,
fax: (0-81) 533-29-12

Edmund K. Prost:
„Polskie przepisy san.-wet.", Tom I i II

NAKŁAD WYCZERPANY