

Laboratórna diagnostika u korytnačiek



Obr. 1: Korytnačka zelenkastá (*Testudo hermanni*)

Zdroj obrázka: PD Dr. Rachel E. Marschang

Korytnačky sú obľúbené domáce zvieratá, ktoré sa pri správnej starostlivosti môžu dožiť vysokého veku. Okrem často chovaných európskych druhov, ako je korytnačka zelenkastá (*Testudo hermanni*) (obr. 1), skúsení chovatelia radi chovajú aj exotické druhy, ako je korytnačka lúčová (*Astrochelys radiata*) či korytnačka leopardia (*Stigmochelys pardalis*). Keďže u korytnačiek sa klinické príznaky prejavujú často až veľmi neskoro a len veľmi nešpecificky, je laboratórne vyšetrenie popri klinickom vyšetrení a zobrazovacej diagnostike najdôležitejším diagnostickým nástrojom. Vďaka nemu môžeme včas stanoviť presnú diagnózu. Toto je obzvlášť dôležité koncom leta pre zvieratá z miernych klimatických pásiem, pretože pred zimným spánkom sa odporúča podrobná diagnostika, aby sa v čo najväčšej možnej miere zabránilo patologickému prebudeniu alebo neprebudeniu z hibernácie. Medzi najužitočnejšie laboratórne testy patrí hematológia a biochémia, parazitológia, molekulárna biológia a sérológia.

VYŠETRENIA KRVI U KORYTNAČIEK

Na vyšetrenie krvi u korytnačiek (obr. 2) je najvhodnejšia lítium-heparínová krv. Klinická biochémia je obzvlášť dôležitá na vyšetrenie funkcie orgánov. Najmä počas zimného spánku môže byť poškodenie pečene alebo obličiek pre zvieratá nebezpečné. V závislosti od druhu, pohlavia, ročného obdobia a teploty môže v jednotlivých biochemických parametroch dochádzať k zmenám, ktoré je potrebné brať do úvahy. Prídavok lymfy vedie okrem iného aj k zníženiu bielkovín, pečeňových enzýmov, hladiny kyseliny močovej a posunu elektrolytov. Trauma pri odbere krvi, napríklad v dôsledku opakovanej neúspešnej venepunkcie, môže viesť k zvýšeniu alkalického fosfatázy a kreatínkinázy. Vzhľadom na veľké kolísanie normálnych hodnôt u niektorých druhov je vhodné vykonávať vyšetrenia krvi aj u zdravých zvierat, aby bolo možné výsledky v prípade ochorenia lepšie porovnať a interpretovať.

Ochorenia obličiek

Kyselina močová ako hlavný konečný produkt metabolizmu bielkovín a purínov u suchozemských druhov slúži ako hlavný indikátor ochorenia obličiek. Závažné zvýšenie sa vyskytuje pri rôznych ochoreniach obličiek, dne, poruchách funkcie obličiek v dôsledku bakteriémie a septikémie a nekróze obličiek v dôsledku nefrotoxických liekov, ako sú aminoglykozidy a sulfonamidy. Skrmovanie živočíšnej potravy, ako napríklad fyziologicky u niektorých druhov korytnačiek, môže tiež viesť k zvýšeniu kyseliny močovej. Znížené hodnoty sa vyskytujú v súvislosti s ochoreniami pečene. U suchozemských druhov hrá močovina len podradnú úlohu, pretože hodnoty zostávajú dlhodobo v normálnom rozmedzí aj pri vysokých hodnotách kyseliny močovej. U vodných druhov slúži aj močovina ako odpadový produkt metabolizmu bielkovín, čo znamená, že zohráva väčšiu úlohu aj pri diagnostike ochorení obličiek. Hladiny fosfátov v krvi sa tiež zvyšujú pri ochorení obličiek, ale hyperfosfatémia môže byť spôsobená aj nadmerným príjmom potravou, hypervitaminózou D a hemolýzou. U mladých zvierat je okrem vápnika a alkalickéj fosfatázy v dôsledku rastu kostí fyziologicky zvýšený aj obsah fosfátov.



Obr. 2: Odber krvi z dorzálnej chvostovej žily u *Testudo marginata*

Zdroj obrázka: PD Dr. Rachel E. Marschang

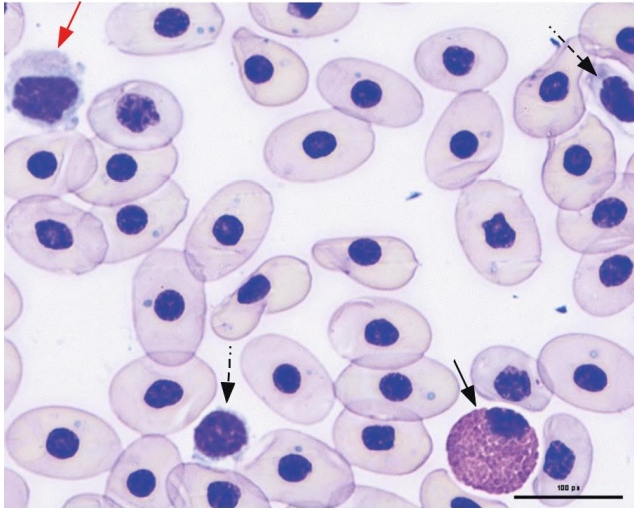
Ochorenia pečene

Hlavným indikátorom poškodenia pečene buniek je GLDH (glutamátdehydrogenáza), ktorá sa prirodzene vyskytuje v mitochondriách pečene buniek a do krvi sa uvoľňuje až vtedy, keď sú bunky zničené. Ďalšie enzýmy, ktoré sa nachádzajú aj v pečene buniek, sú ALT (alanínaminotransferáza), AP (alkalická fosfatáza) a AST (aspartátaminotransferáza). Tieto enzýmy sa však nenachádzajú len v pečeni, ale aj v iných orgánoch tela, takže nie sú také špecifické a je potrebné ich interpretovať v kontexte ďalších krvných parametrov a fyziologických stavov. Ako ukazovatele funkcie pečene slúžia látky, ktoré sú prirodzene syntetizované pečťou a sú zvýšené alebo znížené v prípade poruchy funkcie pečene. V tejto súvislosti je potrebné spomenúť najmä žľozé kyseliny, k ich zmenám však dochádza aj vplyvom kŕmenia, pri upchatí žľozových ciest a pri dehydratácii. Ďalšími funkčnými parametrami sú bielkovinové frakcie v krvi, na ktoré však má vplyv aj príjem potravy a funkcia obličiek. Na diagnostiku tukovatenia pečene buniek môže byť užitočné určiť hladiny triglyceridov a cholesterolu v krvi, pretože bývajú v tejto súvislosti zvýšené. Je potrebné mať na pamäti, že u samíc sú fyziologicky zvýšené pri tvorbe vajčiek (vitelogenéze).

Hematológia

Stanovením hematokritu môžeme diagnostikovať anémiu alebo dehydratáciu. Hematologické vyšetrenie nám môže poskytnúť aj dôležité informácie o zápale. Posuny v počte buniek sú u plazov menšie ako u cicavcov, a preto sa ťažšie interpretujú. Ale aj tu môžu bakteriálne a parazitárne infekcie a stres viesť k zvýšeniu heterofilných granulocytov. Eozinofilné granulocyty sa zvyšujú pri parazitárnych infekciách a stimulácii imunitného systému. Zvýšený počet lymfocytov sa vyskytuje počas hojenia rán, zápalu a parazitárnych a vírusových infekcií. Zmeny v morfológii jednotlivých buniek môžu tiež naznačovať infekcie. V nátere môžu byť diagnostikované aj parazity alebo inklúzie spôsobené vírusovými alebo bakteriálnymi infekciami, nemali by sa však zamieňať s artefaktmi, ktoré môžu vzniknúť napr. pri príprave

alebo sušení náteru. Druh, pohlavie, vek a fyziologický stav zvierat'a tiež ovplyvňujú počet a pomer rôznych leukocytov. Je však tiež dôležité poznamenať, že fyziologicky môžu existovať silné sezónne výkyvy v distribúcii buniek.



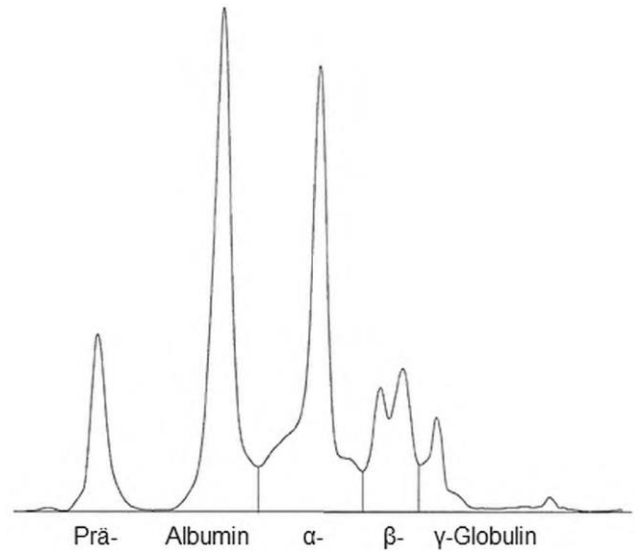
Obr. 3: Krvný náter korytnačky písmenkovej (*Trachemys scripta elegans*). Vidíme lymfocyt (červená šípka), eozinofilný granulocyt (čierna šípka), ako aj dva trombocyty (čierny, prerušované šípky) a a sčasti artefakty v erythrocytoch, ktoré vznikli pri farbení.

Elektroforéza

Okrem hematológie môže poskytnúť užitočné informácie o zdravotnom stave korytnačky aj elektroforéza bielkovín plazmy. Na jednej strane poskytuje spoľahlivé hodnoty albumínu, na druhej strane vďaka separácii globulínov možno urobiť vyjadrenia, či ide u chorého zvierat'a skôr o akútny (zvýšenie α - a β -globulínu) alebo o chronický proces (zvýšenie γ -globulínovej frakcie). Je však dôležité poznamenať, že krivky elektroforézy sa medzi jednotlivými druhmi značne líšia a že na proteíny má vplyv aj mnoho ďalších faktorov, ako je pohlavie a ročné obdobie.

Parazitologické vyšetrenia u korytnačiek

Črevné parazity môžu zviera počas zimného spánku oslabiť tým, že poškodia črevné steny, spôsobia krvácaniny a uvoľnia toxické metabolity. Preto by sa mala koncom leta u všetkých zvierat vyšetriť vzorka trusu na možné napadnutie parazitmi. Je dôležité poznamenať, že po medikamentóznej liečbe môže trvať až 6 týždňov, kým sa zmetabolizujú všetky zvyšky liečiva a kým zviera môže ísť bez obáv do hibernácie.



Obr.4: Zobrazenie kapilárovej elektroforézy z plazmy zdravej korytnačky zelenkastej (*Testudo hermanni*)

Zdroj obrázka: Laboklin

Molekulárne-biologické vyšetrenia u korytnačiek

Počas hibernácie je výrazne obmedzená funkcia imunitného systému, takže obrana proti infekčným pôvodcom je značne znížená. Aby sa zabránilo prenosu a prepuknutiu chorôb, zvieratá by mali byť bez najbežnejších infekčných pôvodcov. Patria sem herpes-, rana-, torchi-(pikorna-) vírusy. Herpesvírusy dokazujeme najmä z výterov hrdla. Ranavírusy môžu byť detegované vo výteroch hrdla, kloaky, avšak vzorky tkanív majú vyššiu senzitivitu. Torchivírusy môžeme dokázať z výterov hrdla a kloaky. Mykoplazmy sa u korytnačiek vyskytujú často a môžeme ich dokázať z výterov hrdla a výplachov nosa. Intranukleárne kokcidie (TINC) možno detegovať aj pomocou PCR. Vyskytujú sa predovšetkým u tropických korytnačiek (hlavne korytnačka hviezdicová), môžu však postihnúť aj mnoho iných druhov. Detegujeme ich z výterov hrdla, kloaky a vzoriek tkanív.



Obr. 5: Odber výteru z hrdla u korytnačky zelenkastej (*Testudo hermanni*)

Zdroj obrázka: PD Dr. Rachel E. Marschang

Sérologické vyšetrenia u korytnačiek

Sérologické testy používané u korytnačiek detegujú protilátky proti niektorým patogénom a môžu tak poukázať na infekcie, ktoré sa vyskytli už pred dlhším časom. Sérologické testy sú zatiaľ dostupné len pre suchozemské korytnačky. Plazma z týchto zvierat môže byť analyzovaná v laboratóriu na protilátky proti najbežnejším herpesvírusom TeHV-1 a TeHV-3. Keďže herpesvírusy spôsobujú latentné infekcie, všetky zvieratá, u ktorých sa zistia protilátky proti herpesvírusu, bez ohľadu na zdravotný stav, by sa mali považovať za perzistentných nosičov. Okrem herpesvírusov možno u korytnačiek dokázať aj protilátky proti torchivírusom (čelad' *Picornaviridae*). Tieto vírusy môžu viesť k ochoreniu obličiek a mäknutiu panciera, najmä u mladých zvierat.

Mikrobiologické vyšetrenia u korytnačiek

Mnoho rôznych baktérií a húb, ktoré je možné kultivovať, môže byť tiež relevantných pre zdravie korytnačiek. Mnohé z nich sú však fakultatívne patogénne a vyskytujú sa aj u zdravých zvierat, takže takéto vyšetrenia majú zmysel len u chorých zvierat a špecifických lokalizácií.

Budúcnosť diagnostiky u korytnačiek

Pre zabezpečenie čo najlepšej diagnostiky pre korytnačky aj v budúcnosti sa neustále snažíme rozširovať ponuku našich služieb, a preto môžu v budúcnosti zohrávať dôležitú úlohu aj nové PCR testy, merania hladín hormónov, vitamínov a minerálov.

PD Dr. Rachel E. Marschang,
Dr. Christoph Leineweber

Ďalšia literatúra

Hyndman T, Marschang RE. Infectious diseases and immunology. In: Doneley B, Monks D, Johnson R, Carmel B, Hrsg. Reptile Medicine and Surgery in Clinical Practice. Oxford, UK: Wiley Blackwell; 2018. 197-216.

Innis C, Knotek Z. Tortoises and freshwater turtles. In: Heatley JJ, Russell KE, Hrsg. Exotic Animal Laboratory Diagnosis. Hoboken, NJ, USA: Wiley Blackwell; 2020. 55-289.

McArthur S, Barrows M. General care of chelonians. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, Hrsg. Medicine and Surgery of Tortoises and Turtles. West Sussex, UK: Blackwell Publishing, Chichester; 2004. 87-108.