

Ильина, С. Н. Анатомия органа зрения. Неотложные состояния в офтальмологии : пособие для студентов лечебного и педиатрического факультетов / С. Н. Ильина, Н. Г. Солодовникова, Ж. М. Кринец. – Гродно : ГрГМУ, 2013. – 180 с. 7. Патологическая физиология : учебник / Н. Н. Зайко [и др.] ; под ред. Н. Н. Зайко, Ю. В. Быця. – 5-е изд. – Москва : МЕДпрессинформ, 2008. – 640 с. 8. Панова, И. Г. Развитие стекловидного тела глаза человека : автореф. дис. ... д-р биол. наук / И. Г. Панова ; Рос. акад. наук институт биологии развития им. Н. К. Кольцова. – Москва, 2012. – 39 с. 9. Абелев, Г. И. Альфа-фетапротейн : биология, биохимия, молекулярная генетика / Г. И. Абелев // Иммунология. – 1994. – № 3. – С. 4–9. 10. Татаринцев, Ю. С. Прошлое и будущее онко-фетальных белков / Ю. С. Татаринцев. – Москва : ПО «Чертановская типография», 1998. – 24 с. 11. Шабалдин, А. В. Роль альфа-фетапротейна в патогенезе врожденных пороков развития плода / А. В. Шабалдин, Т. А. Симонова, Г. В. Лисаченко // *Мать и дитя в Кузбассе*. – 2007. – № 3. – С. 16–19. 12. Холод, В. М. Иммунохимия : учебное пособие для студентов факультета ветеринарной медицины и слушателей ФПК / В. М. Холод ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2017. – 215 с. 13. Холод, В. М. Белки сыворотки крови в клинической и экспериментальной ветеринарии / В. М. Холод. – Минск : Ураджай, 1983. – 78 с. 14. Ponce, A. Role of short-range protein interactions in lens opacifications / A. Ponce, Ch. Sorensen, L. I. Takemoto // *Mol. Vis.* – 2006. – Vol. 12. – P. 879–884. 15. Horwitz, J. α -Crystallin can function as a molecular chaperone / J. Horwitz // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1992. – Vol. 89. – P. 10449–10453. 16. Sun, Y. The small heat shock proteins and their role in human disease / Y. Sun, T. H. MacRae // *FEBS J.* – 2005. – Vol. 272 (11). – P. 2613–2627. 17. Современные представления о патогенезе аутоиммунных увеитов / Е. Б. Третьяк [и др.] // *Клиническая Офтальмология*. – 2003. – № 4. – С. 144. 18. Каламкар, Г. Р. Молекулярные механизмы зрительной рецепции / Г. Р. Каламкар, М. А. Островский ; Рос. акад. наук институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля. – Москва : Наука, 2002. – 275 с. 19. Иммуитет глазного яблока и конъюнктивальная микрофлора / С. А. Кочергин [и др.] // *Инфекции и иммунитет*. – 2012. – Т. 2. – № 3. – С. 635–644. 20. Коновалова, Н. В. Особенности поражения глаза у больных туберкулезом легких / Н. В. Коновалова, А. В. Ковтун // *Восток-Запад - Точка зрения : научно-практический журнал*. – 2014. – Вып. 1. – С. 200–202. 21. Ярцева, Н. С. Избранные лекции по офтальмологии : в 3 т. / Н. С. Ярцева, Л. А. Деев ; под ред. Х. П. Тахчиди. – Москва : Микрохирургия глаза, 2007. – Т. 1. – 290 с. 22. Инфекционные болезни животных / Б. Ф. Бессарабов [и др.] ; под ред. А. А. Сидорчука. – Москва : КолосС, 2007. – 671 с. 23. Синдром «красного глаза» : практическое руководство для врачей-офтальмологов / М. А. Ковалевская [и др.] ; под ред. Д. Ю. Майчука. – Москва, 2010. – 108 с. 24. Майчук, Ю. Ф. Аллергические конъюнктивиты / Ю. Ф. Майчук // *Клиническая офтальмология*. – 2002. – № 1. – С. 6. 25. Рожко, Ю. И. Конъюнктивиты : практическое пособие для врачей / Ю. И. Рожко, Е. А. Тарасюк, А. А. Рожко. – Гомель : ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», 2016. – 124 с.

Статья передана в печать 25.09.2019 г.

УДК 696.2:612.11

ЗНАЧЕНИЕ И ОЦЕНКА БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В СИСТЕМЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Холод В.М., Соболева Ю.Г., Баран В.П., Синцерова А.М., Постраш И.Ю.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Клинико-биохимические исследования являются необходимым элементом профилактической и лечебной работы, проводимой на фермах крупного рогатого скота. Для повышения эффективности этих исследований необходимо совершенствование референтной базы, использование системы поправочных коэффициентов и проведение постоянного мониторинга, что уменьшает влияние биологической вариабельности на результаты анализов. Ключевые слова: биохимические исследования, обмен веществ, референтные значения, оценка результатов, крупный рогатый скот.

VALUE AND ASSESMENT OF BIOCHEMICAL RESEARCH IN SISTEM OF MEDICAL PREVENTIVE MEASURES IN CATTLE

Holod V.M., Soboleva Y.G., Baran V.P., Sincerova A.M., Postrash I.Y.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

Clinical and biochemical research is an essential element of preventive and therapeutic work carried out on the beef cattle farms. To improve the efficiency of these studies it is necessary to develop a reference base, use a system of correction factors and conduct regular monitoring that reduce the influence of biological variability on the results of the analyses. Keywords: biochemical research, metabolism, reference values, results assessment, cattle.

Введение. Вопрос об оценке и результативности биохимических исследований является достаточно сложным и от его решения во многом зависит, насколько эти исследования будут объективно отражать клиническое состояние больного животного, и их можно будет использовать совместно с другими данными в ветеринарной практике.

По мере совершенствования методов и создания универсальных автоматизированных систем биохимические исследования занимают все больший удельный вес в системе лечебных и профилактических мероприятий, проводимых у сельскохозяйственных животных, и, в частности, на фермах крупного рогатого скота. Развитие биохимической лабораторной техники, появление нового, более совершенного оборудования и новых, более чувствительных и точных методов исследования позволяют определить большое число показателей, характеризующих различные стороны обмена веществ, функцию различных органов и систем. Но использование этих исследований в целях клинической биохимии затрудняет возможность объективной оценки полученных результатов, их «привязку» к определенным физиологическим и патологическим процессам.

Двумя основными моментами, осложняющими возможность объективно оценить полученные результаты, являются биологическая вариабельность и недостаточная обоснованность референтных значений, используемых в качестве «нормы», характерной для клинически здоровых животных (само понятие «нормальные» значения пришло в биологию из статистики). Биологическая вариабельность оказывает существенное влияние на оценку результатов, особенно при проведении не систематических, а одноразовых исследований.

Оценка результатов исследования проводится с учетом референтных значений, полученных при обследовании больших групп здоровых животных с использованием статистических методов. Однако все эти данные носят вероятностный характер, так как не могут точно разделить исследуемых животных на «здоровых» (в пределах референтных значений) и «не здоровых», (имеющих значения, выходящие за пределы референтных). В биологических исследованиях доверительная вероятность (вероятность того, что значение определяемой величины действительно находится в пределах данного интервала) принимается равной 95% ($P < 0,05$). Неслучайно поэтому некоторые справочные издания не ограничиваются включением в референтную базу только области наиболее вероятных значений, куда входят данные, совпадающие у всех авторов, но и более широкую зону, с результатами, не совпадающими у всех исследователей, но тоже полученными на клинически здоровых животных.

Если возникает серьезная необходимость следить за состоянием здоровья (а такая необходимость возникает прежде всего при наличии высокопродуктивных и ценных животных), то должен быть постоянный контроль за обменом веществ и биохимическим статусом животных, мониторинг, контролирующей ключевые стороны метаболизма. Только таким путем можно значительно нивелировать биологическую вариабельность, создать наиболее эффективную референтную базу, дать объективную оценку состояния здоровья или выяснить причины снижения продуктивности.

Материалы и методы исследований. Исследования крови были проведены на группе животных хозяйств Витебской области разного возраста и физиологического состояния: телята, дойные и сухостойные коровы, быки-производители (таблицы 1, 2).

Для анализа результатов исследований были выбраны биохимические показатели, которые наиболее часто используются при клинико-биохимических исследованиях и входят во все стандартные схемы таких исследований: общий белок (ОБ), сывороточный альбумин (СА), общий билирубин, общий холестерин (ОХ), кальций, фосфор, железо, аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), щелочная фосфатаза (ЩФ), холинэстераза (ХЭ).

Биохимические показатели в сыворотке крови определяли с использованием стандартных наборов реактивов НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь) и ООО «Ольвекс Диагностикум» (Россия, Санкт-Петербург). Полученный в процессе исследований цифровой материал обрабатывали статистически с использованием общепринятых методов [6] и программы «Microsoft Excel».

Активность АСТ и АЛТ определяли константным методом, ЩФ – по Бессею, Лоури и Брокку производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь), ХЭ – спектрофотометрически с применением наборов фирмы «Лахема» (Чешская Республика). Концентрацию общего белка - биуретовым методом, СА – по реакции с бромкрезоловым зеленым, общего билирубина – методом Йендрашика-Клеггорна-Грофа, ОХ - ферментативно с помощью стандартных наборов реактивов, производства НТПК «Анализ Х», концентрацию железа – колориметрически с феррозином, фосфора – с фосфомолибдатным реактивом, кальция - с о-крезолфталейнкомплексом (НТПК «Анализ Х»).

Анализировалась оценка полученных результатов в зависимости от используемой референтной базы и индивидуальных особенностей животного (пол, возраст, беременность, лактация). Для оценки были взяты две различные референтные базы (1А, 2А), включающие значения, характерные для клинически здоровых животных:

1А Основанная на ТНПА «Методические указания по биохимическому контролю состояния здоровья животных, МУ №02-1-1/31», которая в основном включает область наиболее вероятных значений, совпадающих у всех авторов. Этот источник дает некоторую градацию показателей в зависимости от возраста и физиологического состояния животных, однако условия, в которых они получены, и степень достоверности этих различий не приводятся.

2А Референтные значения, основанные на более широкой базе исследований, включающих те же данные, характерные для клинически здоровых животных, но совпадающие не у всех авторов. Это является вполне обоснованным, так как условия, в которых получены референтные значения, и условия конкретных исследований могут различаться в значительной степени [2].

Подсчитывалось число животных, биохимические показатели которых выходили за границы референтных значений первой базы (n_1) и второй (соответственно n_2).

Результаты исследований. В таблицах 1, 2 приведены результаты оценки биохимических исследований сыворотки крови крупного рогатого скота с использованием референтных значений различных источников, используемых в качестве нормы для клинически здоровых животных.

Данные таблицы 1 свидетельствуют, что использование различной референтной базы в сильной степени влияет на оценку результатов. Если для оценки использовался источник 1А, то за границы референтных значений при исследовании общего белка у телят 1-1,5 месяцев выходит 12 исследований из 15. При исследовании кальция в той же группе – из 15-ти - все 15, фосфора неорганического – 14. С учетом всех исследованных групп животных за пределы референтных значений базы 1А по общему белку вышло 28 исследований из 65 (42%), по кальцию - 63 из 65 (97%), по фосфору неорганическому - 35 из 65 (54%), по железу - 17 из 65 (26%) и по активности АСТ - 22 из 65 (34%). И это несмотря на то, что согласно ТНПА МУ №02-1-1/31 были учтены поправки на возрастные и физиологические особенности исследованных животных.

Таблица 1 – Сравнительная оценка результатов биохимических исследований сыворотки крови крупного рогатого скота

Показатели	Возрастная группа	Число исследований	Результаты исследований Lim	Оценка результатов			
				1А min-max	n_1	2А min-max	n_2
Общий белок, г/л	Телята до 1 мес.	5	51,7-66,7	54,2-63,0	2	60-89	3
	Телята 1,5 мес.	10	56,0-71,2	74,0-79,6	10	-/-	2
	Телята 3-4 мес.	10	59,1-84,2	74,0-79,6	6	-/-	1
	Коровы 20-100 день лактации	10	64,14-95,05	72-86	3	-/-	1
	Коровы 101-200 дней лактации	10	63,22-88,95	72-86	2	-/-	-
	Коровы сухостойные	10	75,2-108,0	71-84	3	-/-	2
	Быки-производители	10	71,37-91,03	70-90	1	-/-	1
Кальций, ммоль/л	Телята до 1 мес.	5	2,04-2,31	2,76-3,14	5	1,62-3,37	-
	Телята 1,5 мес.	10	2,14-2,45	-/-	10	-/-	-
	Телята 3-4 мес.	10	2,12-2,66	-/-	10	-/-	-
	Коровы 20-100 день лактации	10	1,97-3,18	2,5-3,13	9	-/-	-
	Коровы 101-200 дней лактации	10	2,05-2,68	2,5-3,13	9	-/-	-
	Коровы сухостойные	10	2,04-2,31	2,5-3,14	10	-/-	-
	Быки-производители	10	2,28-2,41	2,8-4,0	10	-/-	-
Фосфор неорганический, ммоль/л	Телята до 1 мес.	5	2,06-2,75	1,86-2,22	4	0,81-2,72	-
	Телята 1,5 мес.	10	2,28-3,06	1,79-2,06	10	-/-	-
	Телята 3-4 мес.	10	1,79-3,11	1,79-2,06	9	-/-	-
	Коровы 20-100 день лактации	10	0,98-2,08	1,45-1,94	9	-/-	-
	Коровы 101-200 дней лактации	10	1,53-2,07	-/-	-	-/-	-
	Коровы сухостойные	10	1,36-2,09	1,2-2,17	-	-/-	-
	Быки-производители	10	1,41-2,61	1,5-2,5	2	-/-	-

Продолжение таблицы 1

Железо, мкмоль/л	Телята до 1 мес.	5	6,28-67,32	15,2-37,6	2	15,2-37,6	2
	Телята 1,5 мес.	10	11,35-60,74	-//-	3	-//-	3
	Телята 3-4 мес.	10	13,39-32,97	-//-	3	-//-	3
	Коровы 20-100 день лактации	10	6,86-27,53	16,0-27,0	2	-//-	2
	Коровы 101-200 дней лактации	10	9,74-26,42	-//-	2	-//-	2
	Коровы сухо- стойные	10	9,99-29,31	-//-	4	-//-	4
	Быки-произво- дители	10	14,21-26,43	-//-	-	-//-	1
АСТ, МЕ/л	Телята до 1 мес.	5	34,7-110,0	до 90	2	11-160	-
	Телята 1,5 мес.	10	46,2-165,3	до 90	2	-//-	-
	Телята 3-4 мес.	10	72,8-142,9	до 90	5	-//-	-
	Коровы 20-100 день лактации	10	70,8-109,5	до 93	8	-//-	-
	Коровы 101-200 дней лактации	10	85,1-132,8	до 93	7	-//-	-
	Коровы сухо- стойные	10	57,3-108,9	до 120	-	-//-	-
	Быки-произво- дители	10	56,2-104,7	до 111	-	-//-	-

Таблица 2 – Анализ биохимических показателей сыворотки крови дойных коров (n=40)

Показатели	Результаты исследований Lim	Оценка результатов			
		1А min-max	n ₁	2А min-max	n ₂
Общий белок, г/л	69,9-85,07	77-86	2	60,0-89,0	-
Кальций, ммоль/л	1,95-2,8	2,5-3,38	17	1,62-3,37	-
Фосфор неорганический, ммоль/л	1,17-2,07	1,3-2,0	6	0,81-2,72	-
Железо, мкмоль/л	19,51-31,71	19,0-27,0	16	15,2-37,6	-
АСТ, МЕ/л	68,6-106,1	до 93	8	11,0-160,0	-

То есть, если делать заключение по результатам этих исследований, то нужно сделать вывод о серьезных нарушениях белкового и минерального обмена у этих групп животных. Однако, несовершенство референтной базы, одноразовость исследований ставит под сомнение эти выводы.

При использовании референтных значений другого источника (2А) по общему белку у телят 1-1,5 месяцев из 15-ти исследований за границы референтных вышли пять, по кальцию и фосфору – все значения уложились в референтный интервал. То есть выводы в этом случае должны отличаться от тех, которые были сделаны при использовании референтной базы 1А.

Значительные расхождения при использовании различных референтных баз наблюдаются при исследовании ферментов. Если при использовании референтной базы 1А за пределами нормы оказываются 24 животных из 65 (37%) (таблица 1), то при использовании значений 2А базы все показатели укладываются в эти значения. Так как определение активности АСТ является традиционным показателем при оценке состояния печени, то встает вопрос о действительном состоянии, в котором находится этот орган.

Аналогичные разночтения в большей или меньшей степени отмечены по всем проанализированным показателям.

Это еще раз подтверждает определенную субъективность установления граничных референтных значений, которые в значительной степени зависят от объема и состава исследовательской базы, на основе которой выводились значения нормы.

Таким образом, использование различной референтной базы приводит к неоднозначной оценке полученных результатов. Использование 1А-источника оставляет за гранью нормы значительно большее число исследований, чем в том случае, когда используется более широкая референтная база (2А).

В таблице 2 представлены результаты анализа биохимических исследований более однородной группы животных (дойные коровы), но тоже с использованием различных вариантов референтных значений. При использовании нормативной базы 1А по кальцию у 17 коров из 40 (42,5%) значения вышли за пределы референтных. По неорганическому фосфору эта цифра составила 49%, по железу – 40%, по активности АСТ – 20%. Использование же референтной базы 2А показало, что по этой группе животных ни одно значение не вышло за границы нормативных значений.

Из сравнения данных таблицы 1 и 2 также видна зависимость оценки биохимических исследований как от используемой референтной базы, так и от индивидуальных особенностей исследуемой группы животных.

Как видно из приведенных результатов, особенно сильное влияние на биохимический состав крови оказывает возраст. Это происходит даже несмотря на то, что делаются попытки учесть возрастные изменения при анализе биохимических исследований (ТНПА МУ №02-1-1/31). Очевидно, что референтная база, учитывающая влияние возраста на результаты исследований, должна совершенствоваться.

Несовершенство референтной базы всегда оставляет открытым вопрос: что означает выход за пределы референтных значений? Наличие определенных патологических изменений или индивидуальные особенности конкретных животных?

Для учета влияния возраста и различного физиологического состояния на результаты клинко-биохимических исследований можно использовать систему поправочных коэффициентов. В таблицах 3, 4 приведены такие поправочные коэффициенты, выведенные на основании исследований нескольких групп крупного рогатого скота разного возраста и находящихся в различном физиологическом состоянии.

Таблица 3 – Коэффициенты пересчета некоторых биохимических показателей крови для телят

Биохимические показатели	Телята		
	1-10 дней	3-4 месяцев	6-7 месяцев
АСТ	1	2,5	1,5
АЛТ	1	2,5	1,5
ЩФ	5	4,5	4
ХЭ	1	0,5	2
Общий белок	0,75	0,8	1
Сывороточный альбумин	1	1	1,15
Общий билирубин	1,35	8,55	1,15
Общий холестерин	0,6	1,55	1,4

Таблица 4 – Коэффициенты пересчета некоторых биохимических показателей для стельных коров

Биохимические показатели	Коровы		
	I триместр	II триместр	III триместр
АСТ	0,65	0,55	0,65
АЛТ	0,75	0,75	0,75
ЩФ	0,6	0,15	0,35
ХЭ	0,55	0,5	0,65
Общий белок	1	0,85	1
Сывороточный альбумин	1,5	1,65	1,6
Общий билирубин	0,75	0,65	1,1
Общий холестерин	2,1	1,5	1,5

В этом случае усредненные референтные значения, используемые для оценки результатов, основанные на исследовании различных возрастных групп, умножают на поправочный ко-

эффицент. Система поправочных коэффициентов позволяет более объективно интерпретировать данные, полученные при исследовании животных различных возрастных групп и находящихся в различном физиологическом состоянии. Эта система может быть распространена и на другие физиологические состояния (например, продуктивность; сезон года и связанные с ним условия содержания и др.)

Оптимальным вариантом был бы интегрирующий коэффициент, учитывающий различные факторы на биохимический статус организма. Однако выведение такого коэффициента представляет значительные методические трудности.

Кроме того, необходимо учитывать, что даже при унификации референтной базы проведение однократных исследований представляется малоперспективным для обнаружения предклинических форм патологических состояний. Это можно сделать, если проводить систематический мониторинг биохимического статуса крупного рогатого скота, в ходе которого значительно «сглаживаются» индивидуальные особенности животных. В этом случае результаты исследований поддаются объективной оценке значительно легче, даже с учетом несовершенства референтной базы.

Необходимо также иметь в виду, что клиничко-биохимические лаборатории используют часто стандартный набор биохимических тестов, который далеко не всегда соответствует целям и задачам, стоящим перед такой лабораторией, в связи с чем проводятся те или иные исследования. Среди них:

- плановое мероприятие;
- возникновение заболевания с определенной клиникой;
- гибель молодняка;
- снижение продуктивности либо качества продукции.

Перечень можно продолжить. Однако ясно, что во всех этих случаях должен осуществляться дифференцированный подход в выборе показателей с учетом вида животных и поставленных перед лабораторией задач. Это в значительной степени определяется методической базой, которой обладает конкретная лаборатория и наличием соответствующего оборудования.

Заключение. На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Биохимический контроль является необходимым элементом лечебно-профилактической работы, проводимой с сельскохозяйственными животными и, в частности, с крупным рогатым скотом.

2. Оценка результатов биохимических исследований проводится путем сравнения с референтными (нормативными) значениями, характерными для клинически здоровых животных и носит вероятностный характер, что необходимо учитывать при формулировании окончательного заключения.

3. Необходимо совершенствование референтной базы, используемой в клиничко-биохимических исследованиях. Наилучшим вариантом является создание референтной базы, основанной на данных конкретной лаборатории, в наибольшей степени учитывающей биологическую и аналитическую вариабельность.

4. Биохимический контроль состояния здоровья животных должен осуществляться в динамике, путем постоянного мониторинга, позволяющего учитывать индивидуальные особенности животного и их изменения.

5. Животные, которые имеют значительные отклонения от нормативных значений, должны быть исследованы повторно с использованием дополнительных тестов, конкретизирующих установленные изменения.

Литература. 1. Холод, В. М. Клиническая биохимия : учебное пособие : в 2 ч. Ч. 1 / В. М. Холод, А. П. Курдеко. – Витебск : УО ВГАВМ, 2005. – 188 с. 2. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск : Ураджай, 1988. – 168 с. 3. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / ред. И. П. Кондрахин. – Москва : КолосС, 2004. – 520 с. 4. Холод, В. М. Биохимический мониторинг состояния здоровья крупного рогатого скота / В. М. Холод, Ю. Г. Соболева // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – Витебск, 2018. – Т. 54, вып. 2. – С. 80–83. 5. Биометрия в животноводстве и ветеринарной медицине : учебно-методическое пособие для аспирантов, соискателей, магистрантов и студентов / В. К. Смунова [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2006. – 38 с. 6. Рекомендации по клиничко-биохимическому контролю состояния здоровья свиней / А. П. Курдеко [и др.]. – Горки : БГСХА, 2013. – 56 с. 7. Холод, В. М. Рекомендации по использованию в диагностике патологии печени гепатоспецифического метаболического профиля сыворотки крови крупного рогатого скота / В. М. Холод, Ю. Г. Соболева. – Витебск : ВГАВМ, 2008. – 31 с.

Статья передана в печать 26.07.2019 г.