

УДК 636.2:612.015

БИОХИМИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**Холод В.М., Соболева Ю.Г.**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Оценку биохимических исследований при диспансеризации или клиническом обследовании животных следует проводить с учетом референтных значений, полученных конкретной лабораторией, проводящей такие исследования. Для учета особенностей, связанных с патологическим процессом или физиологическим состоянием (беременность, возраст и др.) следует максимально исключить биологическую и аналитическую вариабельность. **Ключевые слова:** биохимические исследования, животные, референтные значения, лаборатория, вариабельность.*

BIOCHEMICAL MONITORING OF CATTLE HEALTH STATE**Cholod V.M., Soboleva Y.G.**

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

*Assessment of biochemical research during medical or clinical examination of animals should be carried out taking into account the effect of the reference values obtained by the particular laboratory which carries out such research. To take into account the peculiarities connected with pathological process or physiological state (pregnancy, age, etc.) it is necessary to minimize biological and analytical variability. **Keywords:** biochemical research, animals, reference values, laboratory, variability.*

Введение. В настоящее время при диспансеризации животных и клиническом обследовании широкое распространение получили биохимические исследования крови, позволяющие получить дополнительные сведения о состоянии здоровья, определить нарушения обмена веществ еще на предклинической стадии, улучшить диагностику и наметить соответствующие профилактические, а в случае необходимости, и лечебные мероприятия.

Диспансеризация, позволяющая обнаружить животных с нарушением обмена веществ и определенной патологией, но еще не проявляющих клинических признаков заболевания, особенно необходима в группах высокопродуктивных животных, находящихся в условиях интенсивной эксплуатации.

Если первый этап клинико-биохимических исследований достаточно хорошо регламентирован (правила взятия материала, его доставка в лабораторию, время и методы исследования и др.), то оценка полученных результатов, их интерпретация являются наиболее сложным этапом при проведении таких исследований.

Механическое сравнение полученных результатов со значениями, выбранными в качестве «нормы», часто не может дать нужной информации, даже если они будут получены в аккредитованной лаборатории.

В качестве такой «нормы» часто используются результаты, приведенные в различных справочных изданиях и методических указаниях [2, 8]. Недостатком всех этих референтных значений является то, что они представляют собой обобщение данных, полученных различными авторами, на различном оборудовании и различных группах животных (клинически здоровых!), но находящихся в различном физиологическом состоянии, разных хозяйственных, климатических условиях и др. Поэтому все они в сильной степени подвержены аналитической и, особенно, биологической вариабельности.

Биохимические тесты, используемые в настоящее время при обследовании животных, следует разделить на две группы: группу ненаправленных стандартных тестов, выполняемых при диспансеризации, и группу специальных направленных исследований, позволяющих конкретизировать имеющиеся отклонения и установить характер патологического процесса. Тесты 1-й группы относительно просты, для них имеются стандартные наборы, исключающие длительную подготовительную работу. Для их выполнения используется обычно автоматизированное оборудование, позволяющее в короткое время выполнять большое количество исследований. К такому стандартному набору тестов относится общий белок (ОБ), сывороточный альбумин (СА), общий билирубин, глюкоза, кальций, фосфор, железо, калий, натрий, мочевины, аспартат- и аланинаминотрансфераза (АСТ, АЛТ) и некоторые другие [2].

Ко второй группе относятся более сложные специальные исследования, для которых обычно нет стандартных наборов, включающие определение некоторых простагландинов, метаболитов витамина D, ключевых ферментов углеводного и белкового обмена, гормонов, показателей врожденного и адаптивного (лимфоцитарного) иммунитета и др., позволяющих конкретизировать обнаруженные нарушения.

Материалы и методы исследований. В таблице 1 приведены данные исследований, проведенных на группе коров хозяйств Витебской и Могилевской областей в зимне-весенний период стойлового содержания с использованием 1-й группы тестов. Работа велась на ОАО «Витебский мясокомбинат», в лаборатории кафедры химии УО ВГАВМ. Приведены границы средних значений (графа 1, 2) и референтные значения различных источников (графа 3, 4, 5).

Таблица 1 – Биохимические показатели сыворотки крови крупного рогатого скота в различные физиологические периоды

Название показателя	Коровы (Lim)		Референтные значения		
	дойные (1)	сухостойные (2)	[2] (3)	[8] (4)	$\bar{x} \pm 2S$ дойн. (5)
ОБ (г/л)	79,86-85,12	83,08-85,37	72,0-86,0	60,0-89,0	67,87-101,11
СА (г/л)	35,38-35,92	34,88-35,52	27,5-39,4	30,0-52,6	34,8-38,2
Глюкоза (ммоль/л)	3,55-4,49	2,73-2,93 *	2,2-3,3	1,32-4,89	1,06-6,98
ОХ (ммоль/л)	4,27-4,67	4,71-5,38	1,3-4,42	0,67-2,88	3,21-5,73
Билирубин общий (мкмоль/л)	1,39-1,99	1,42-2,16	1,7-10,3	0,34-8,21	0,12-3,61
ЩФ (ИЕ/л)	116,54-189,66	125,98-192,42	100,0-200,0	2,4-164,0	0,8-384,3
АСТ (ИЕ/л)	101,55-110,85	105,65-110,75	10,0-50,0	11,0-160,0	76,8-135,6
АЛТ (ИЕ/л)	25,92-30,68	36,98-38,06 **	10,5-30,0	1,3-60,0	12,5-44,1
Ca (ммоль/л)	2,25-2,53	2,16-2,3	2,5-3,313	1,62-3,37	1,51-3,27
P (ммоль/л)	1,55-2,01	1,35-1,51	1,45-1,94	0,81-2,72	0,14-3,42
Ca / P	1,35-1,83	1,52-1,8	1,71-1,72	1,24-2,0	0,96-10,79
Mg (ммоль/л)	0,97-1,07	1,05-1,15	0,82-1,23	0,53-1,64	0,72-1,32
Fe (мкмоль/л)	32,53-38,13	30,29-35,69	16,0-27,0	15,2-37,6	17,61-53,05

Примечания: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

В качестве референтных использовались данные справочников и методических указаний [2, 8], а также статистическое правило «двух стандартных отклонений», в соответствии с которым с доверительной вероятностью 0,95, принятой в биологических исследованиях, референтными считаются значения в пределах $\bar{x} \pm 2S$.

Исследованные показатели определяли с использованием стандартных наборов НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь) и ООО «Ольвекс Диагностикум» (Россия, Санкт-Петербург).

Полученный в процессе исследований цифровой материал обработан статистически с использованием общепринятых методов [1, 2] и программы «Microsoft Excel».

Результаты исследований. Сравнительный анализ результатов, приведенных в таблице 1, показывает возможность установить различия по ряду метаболических показателей между дойными и сухостойными коровами. Так, у дойных коров было установлено статистически достоверное увеличение глюкозы в крови, активности АЛТ. Но в этом случае референтные значения не использовались, а сравнение проводилось между группами животных, находившихся в различном физиологическом состоянии. Так как забор крови и соответственно исследования проводились одновременно, на одном и том же оборудовании и одними и теми же методами, то условия, влияющие на аналитическую и биологическую вариабельность, автоматически выравнивались. Установить же связь биохимических показателей с физиологическим состоянием животных (беременность, возраст и др.), ориентируясь на референтные значения, чаще всего не представляется возможным именно в силу большой биологической вариабельности.

Поэтому дать однозначную оценку результатам биохимического мониторинга с использованием референтных значений можно далеко не всегда. В зависимости от того, референтные значения какого источника использовались, можно дать различную оценку содержания одних и тех же биохимических показателей.

Например, содержание общего холестерина (ОХ) выходит за рамки референтных значений, если в качестве «нормы» использовать данные [2, 8] и укладывается в эти значения при использовании правила двух стандартных отклонений. Аналогичные разночтения имеют место при оценке других показателей – глюкозы, железа, щелочной фосфатазы (ЩФ), АСТ и АЛТ (таблица 1).

При анализе результатов обследования необходимо проводить не только сравнение результатов исследования с референтными значениями с целью обнаружения отклонения от нормы, но и оценку взаимосвязи отдельных показателей, что позволяет дать дополнительную информацию о результатах исследования (таблица 2).

В таблице 2 приведены значения двух связанных между собой показателей - гемоглобина и железа сыворотки крови. Хотя большая часть как экзогенного, так и эндогенного железа используется для синтеза гемоглобина, корреляция между этими показателями чаще всего отсутствует как у дойных, так и у сухостойных коров. Так, например, у животного №1103 при гемоглобине 100 г/л содержание сывороточного железа составило 45,56 мкмоль/л, а у коровы №1973 при содержании железа 30,08 мкмоль/л концентрация гемоглобина была более высокой – 107,6 г/л. То же самое в группе сухостойных коров. У животного №3018 при содержании железа 51,72 мкмоль/л гемоглобин составил 102,0 г/л, а у коровы №2199 при содержании железа в сыворотке крови 33,19 мкмоль/л гемоглобин составил 103,1 г/л.

Низкое содержание гемоглобина даже при высоком содержании железа в сыворотке крови свидетельствует, скорее всего, о его дефиците и активном использовании запасного фонда железа печени, что вызывает повышение железа в сыворотке крови. Такое сочетание данных биохимических показателей может свидетельствовать о том, что компенсаторные возможности

организма находятся еще на высоком уровне.

Низкое содержание железа в сыворотке крови, сочетающееся с низким содержанием гемоглобина, указывает о наступлении стадии декомпенсации, когда внутренние резервы истощены, а поступление экзогенного железа недостаточно.

Таблица 2 – Индивидуальные колебания значений концентрации железа и гемоглобина в крови у коров

№	Дойные		№	Сухостойные	
	Fe (мкмоль/л)	Гемоглобин (г/л)		Fe (мкмоль/л)	Гемоглобин (г/л)
1103	45,56	100,0	1179	36,05	92,5
2722	46,40	103,2	2812	30,79	89,1
1083	30,83	62,1	2913	34,26	95,1
1494	33,83	87,4	3142	22,18	85,5
2651	49,73	92,0	3150	21,59	73,2
3006	28,59	93,1	1169	28,53	73,0
1973	30,08	107,6	2175	33,55	91,4
1618	28,57	131,2	3018	51,72	102,0
0954	35,74	93,2	2199	33,19	103,1
1036	23,92	141,8	2204	37,99	100,9

Окончательное же заключение о характере нарушения обмена железа, приводящего к нарушению гемсодержащих белков, и способах по его устранению возможно сделать только при использовании специфических тестов 2-го этапа: общей железосвязывающей способности сыворотки крови, степени насыщения трансферрина железом, содержания ферритина в печени и активности основных ферментов биосинтеза гемоглобина.

К тестам 1-й группы, которые проводятся при первичном обследовании животных, относятся также некоторые ферменты: аспаратаминотрансфераза (АСТ), аланинамино-трансфераза (АЛТ) и щелочная фосфатаза (ЩФ) (таблица 1).

Интерпретация активности ферментов всегда представляет большие трудности, вследствие того, что их активность изменяется в очень широких пределах, а также использованием различных единиц (тривиальных – единиц Бодански, Бессей-Лоури и т.д.), но чаще международных («Юнит», ИЕ/л) и единиц СИ (катал).

Как видно из таблицы 3 и 4, эти ферменты вполне могут быть использованы как для оценки физиологического состояния животных, так и при патологии (жировая дистрофия печени). Однако, это в условиях, когда есть контрольная группа и взятие крови проводится одновременно у животных различных групп, что, как уже отмечалось, нивелирует аналитическую и биологическую вариабельность.

Таблица 3 – Активность некоторых ферментов в сыворотке крови коров

Показатели	Коровы со сроком стельности			Нестельные коровы
	1-3 месяца	4-6 месяцев	7-9 месяцев	
АСТ, мккат/л	0,13 ± 0,008***	0,11 ± 0,003***	0,13 ± 0,008***	0,20 ± 0,004
АЛТ, мккат/л	0,10 ± 0,011**	0,11 ± 0,006***	0,11 ± 0,003***	0,14 ± 0,002
Коэффициент де Ритиса	1,55 ± 0,311	1,44 ± 0,446	1,17 ± 0,072	1,43 ± 0,005
ЩФ, мккат/л	0,35 ± 0,022***	0,09 ± 0,014***	0,20 ± 0,022***	0,56 ± 0,021
ХЭ, мккат/л	3,83 ± 0,315***	3,58 ± 0,097***	4,51 ± 0,204***	7,09 ± 0,449
ГГТ, мккат/л	0,54 ± 0,058	0,67 ± 0,060	1,01 ± 0,030***	0,59 ± 0,062

Примечания: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ по сравнению с нестельными животными.

Таблица 4 – Биохимические показатели сыворотки крови коров с жировой дистрофией печени

Показатели	Коровы	
	с жировой дистрофией печени	клинически здоровые
АСТ, мккат/л	0,35 ± 0,02 ***	0,20 ± 0,01
АЛТ, мккат/л	0,16 ± 0,03	0,14 ± 0,01
Коэффициент де Ритиса	2,67 ± 0,60	1,43 ± 0,01
ЩФ, мккат/л	0,96 ± 0,06 ***	0,56 ± 0,02
ХЭ, мккат/л	3,33 ± 0,19 ***	7,09 ± 0,50
ГГТ, мккат/л	0,56 ± 0,16	0,59 ± 0,06
Билирубин общий, мкмоль/л	3,55 ± 0,71	3,01 ± 0,57
СА (г/л)	17,67 ± 1,30*	21,25 ± 0,55
ОХ (ммоль/л)	5,13 ± 0,63*	3,33 ± 0,10
Апо-β-ЛП, у.е.	12,30 ± 2,23	11,13 ± 0,43
Тимоловая проба, S-H	0,90 ± 0,48	0,60 ± 0,11

Примечания: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ по сравнению со здоровыми животными.

Границы «нормы» активности ферментов, полученные на очень большом контингенте животных, но находящихся в различных регионах и содержащихся в отличающихся условиях

кормления и содержания, могут быть очень широкими, что затрудняет использование референтных значений.

Традиционно в тесты 1-й группы включают такие показатели минерального обмена, как кальций (Ca) и фосфор (P). Данные, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о достаточном широком разбросе значений этих элементов, в том числе и коэффициента Ca/P, которые, тем не менее, в основном укладываются в референтный интервал. Однако, данные о нарушении минерального обмена, сделанные на основании этих исследований, в лучшем случае можно считать предварительными. Окончательные выводы могут быть сделаны после проведения 2-й группы тестов, в частности, витамина Д и особенно его метаболитов, которые и являются регуляторами обмена Ca и P.

Заключение.

1. Проведение биохимических исследований должно строго регламентироваться на всех этапах клиничко-биохимических исследований: подготовка обследуемых животных; правила взятия, хранения, доставка материала в лабораторию; сроки, в течение которых должно быть проведено исследование; метод, которым оно должно проводиться, регистрация результатов.

2. Наиболее оптимальным является вариант, когда конкретная лаборатория, специализирующаяся в области клинической биохимии, разрабатывает по результатам своих исследований референтные значения для данного региона, конкретного контингента животных и с учетом других особенностей, которые могут оказать влияние на значения, используемые в качестве референтных, характерных для здоровых животных.

3. Тесты, используемые в клиничко-биохимических исследованиях, должны делиться на две группы: группу ненаправленных тестов, имеющих целью установить отклонения от нормальных значений, и группу специальных тестов, ориентированных на установление конкретного патологического процесса.

4. В тесты 1-й группы, используемые при диспансеризации, должны быть включены показатели кислотно-щелочного равновесия (рН, рСО₂, рО₂, сдвиг буферных оснований ВЕ, буферные основания ВВ, стандартный бикарбонат SB), позволяющие выявлять начальные стадии метаболических нарушений (соответствующее оборудование в настоящее время имеется).

5. С животными, показывающими значительные отклонения от референтных значений, нужно проводить дополнительные исследования с использованием различных тестов 2-й группы, позволяющих конкретизировать причины этих отклонений и характер патологического процесса.

6. Для установления зависимости между физиологическим состоянием животных и биохимическими показателями, необходимо исключить аналитическую и биологическую вариативность. Аналогичные условия необходимо соблюдать и при оценке патологических изменений.

Литература. 1. Биометрия в животноводстве и ветеринарной медицине : учеб.-метод. пособие для аспирантов, соискателей, магистрантов и студентов / В. К. Смунова [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2006. – 38 с. 2. Методические указания по исследованию биохимического состава крови животных с использованием диагностических наборов / С. В. Петровский [и др.]. - Витебск : УО ВГАВМ, 2017. – 48 с. 3. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / под. ред. И. П. Кондрахина. – Москва : КолосС, 2004. – 520 с. 4. Рекомендации по клиничко-биохимическому контролю состояния здоровья свиней / А. П. Курдеко [и др.]. – Горки : БГСХА, 2013. – 56 с. 5. Соболева, Ю. Г. Оценка коллоидно-осадочных проб у крупного рогатого скота / Ю. Г. Соболева // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства : материалы III Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 30 мая 2003 г. / Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». - Витебск, 2003. – С. 220-221. 6. Холод, В. М. Клиническая биохимия : учеб. пособие : в 2 ч. / В. М. Холод, А. П. Курдеко. – Витебск : УО ВГАВМ, 2005. – Ч. 1. – 188 с. 7. Холод, В. М. Рекомендации по использованию в диагностике патологии печени гепатоспецифического метаболического профиля сыворотки крови крупного рогатого скота : утв. ГУВ МСХиП РБ 21.03.2008 г. / В. М. Холод, Ю. Г. Соболева. – Витебск : ВГАВМ, 2008. – 31 с. 8. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск : Ураджай, 1988. – 168 с.

Статья передана в печать 30.05.2018 г.