

УДК 696.2:612.11

**Ю. Г. Соболева<sup>1</sup>, В. М. Холод<sup>2</sup>, В. П. Баран<sup>3</sup>, И. В. Котович<sup>4</sup>, Д. С. Конотоп<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Кандидат ветеринарных наук, доцент, доцент кафедры химии, УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры химии, УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>3</sup>Кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой химии, УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

<sup>4</sup>Кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биолого-химического образования, УО «Мозырский государственный педагогический университет им. И. П. Шамякина», г. Мозырь, Республика Беларусь

<sup>5</sup>Ассистент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней, УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

### **РОЛЬ БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОЦЕНКЕ КЛИНИЧЕСКОГО СТАТУСА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

*Использование биохимических исследований при оценке клинического статуса животных необходимо как при проведении массовых исследований животных во время диспансеризации (скрининга), так и при проведении диагностических и лечебных мероприятий у больных животных (мониторинг).*

*Ключевые слова: биохимические исследования, обмен веществ, референтные значения, оценка результатов, свиньи, крупный рогатый скот.*

#### **Введение**

Биохимические исследования занимают все большее место в системе лабораторной оценки здоровья как у человека, так и у животных [1]–[3]. На их долю приходится более трети всех лабораторных исследований, включая как достаточно сложные (определение некоторых гормонов, иммунных и наследственных факторов и др.), так и сравнительно простые, получившие широкое распространение в работе рядовых клинико-биохимических лабораторий.

В связи с автоматизацией и компьютеризацией исследований и широким использованием коммерческих наборов реактивов, биохимические исследования приобретают все более массовый характер. Однако такие исследования выполняют свою роль при обследовании как больных, так и здоровых животных только в том случае, если правильно определены цели исследования, а выбранные показатели, характеризующие определенные стороны обмена веществ, соответствуют поставленной задаче и проведена обоснованная интерпретация полученных результатов.

Получение и оценка разнообразной необходимой информации, характеризующей состояние животного, лежит в основе работы клинико-биохимических лабораторий. Необходимо учитывать, что результаты биохимических исследований – это всего лишь часть информации, полученной при обследовании больного животного, она должна учитываться в комплексе с другими лабораторными и клиническими данными.

Регламентация и система контроля качества клинико-биохимических исследований, оказывающих влияние на конечный результат, состоит из трех этапов: предварительного, аналитического и оценки результатов.

Предварительный этап стандартизирует правила взятия материала, его подготовку с учетом всех факторов, которые могут оказать влияние на результаты исследования (устойчивость, физико-химические свойства анализируемых показателей, физиологическое состояние животных и др.). Этот этап, как правило, хорошо документирован. Однако эти правила часто не соблюдаются, что является одной из причин получения неадекватных результатов.

Второй этап (аналитический) заключается в оценке и выборе метода исследования, оборудования, наличии стандартов, позволяющих контролировать выполнение измерения, устанавливать границы аналитической ошибки, методы статистической обработки.

Выбранный аналитический метод должен обеспечить получение достаточно точных результатов, т. е. давать одинаковые результаты при повторных исследованиях. Он должен быть достаточно чувствительным и специфичным. Существование большого числа методов для определения одного и того же биохимического показателя часто затрудняет оценку полученных результатов при сопоставлении их с референтными значениями.

Так как биохимические исследования являются, как правило, количественными, важным является вопрос о единицах выражения результатов исследования. Использование различных единиц и расчетных методов затрудняет сопоставление полученных результатов с референтными значениями, что может привести к неправильным выводам. Это в первую очередь необходимо учитывать при исследовании ферментов, для которых особенно много методов, различающихся как условиями проведения (температура, рН, ионная сила и др.), так и единицами, выражающими их активность.

Также особенно сложным является вопрос оценки результатов биохимических исследований. От правильного его решения во многом зависит точность поставленного диагноза и эффективность проведения лечебно-профилактических мероприятий.

Необходимо иметь в виду, что все биохимические исследования подвержены как биологической, так и аналитической вариабельности. Биологическая вариабельность проявляется еще в большей степени, чем аналитическая, так как она обусловлена как генетическими и физиологическими факторами (порода, пол, возраст и др.), так и факторами внешней среды (время суток, температура, географические факторы и т. д.).

В ветеринарии в качестве «нормальных» значений обычно используются данные, полученные на животных, находящихся в различных хозяйственных и климатических условиях, хотя все они клинически здоровы. Поэтому влияние биологической вариабельности будет довольно значительным, что затрудняет использование биохимических показателей в качестве референтных значений.

В настоящее время разработка новых методов исследования опережает возможности их использования для оценки состояния здоровья сельскохозяйственных животных. Из большого числа показателей, которые можно определить с помощью современного оборудования, в целях практической медицины и ветеринарии можно использовать меньше половины [3]. Причиной этому является невозможность обоснованно связать результаты биохимических исследований с определенным физиологическим или патологическим процессом в организме. Поэтому их не представляется возможным использовать в целях клинической ветеринарии, при проведении скрининговых обследований, в целях диагностики или при оценке характера и глубины патологии.

Для контроля состояния здоровья животных в числе других видов исследований проводятся биохимические исследования крови, позволяющие установить нарушения обмена веществ еще на доклинической стадии, когда они еще не трансформировались в определенную патологию [4], [5]. Такие обследования особенно необходимы в хозяйствах, использующих промышленную технологию содержания животных, часто резко отличающуюся от традиционных условий. Они позволяют установить отклонения ряда показателей, характеризующих различные стороны обмена веществ от «нормальных» значений, принятых для здоровых животных, провести необходимую коррекцию в условиях содержания и выращивания. При этом всегда должна учитываться биологическая вариабельность, так как исследованию подвергаются, как правило, животные с различными породными, возрастными, физиологическими и индивидуальными особенностями.

#### **Материал и методы исследований**

Проведено две серии исследований с целью изучения возможности использования биохимических показателей при оценке клинического статуса сельскохозяйственных животных. В первой серии опытов эти исследования проводились при проведении диспансеризации в условиях хозяйства. Исследовалась сыворотка крови хряков-пробников и супоросных свиноматок ОАО «Свинокомплекс Негновичи» Борисовского района.

Вторая серия опытов проводилась на коровах хозяйств Витебской и Могилевской областей, у которых была установлена жировая дистрофия печени, впоследствии подтвержденная после убоя гистологически. Работа велась на ОАО «Витебский мясокомбинат», в лаборатории кафедры химии УО ВГАВМ.

Биохимические показатели в сыворотке крови определяли с использованием стандартных наборов реактивов НТПК «Анализ X» (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».

При проведении биохимических исследований среди сельскохозяйственных животных с целью установления отклонения от нормального клинического статуса, которые связаны с нарушением условий содержания или установления субклинических форм заболевания, используется стандартный набор показателей, характеризующий различные стороны обмена веществ. К их числу относится общий белок (ОБ), сывороточный альбумин (СА), гамма-глобулины – показатели белкового обмена; кальций (Са), фосфор (Р), магний (Mg), железо (Fe) – показатели минерального обмена; глюкоза – показатель углеводного обмена; общий холестерин (ОХ) – показатель липидного обмена. Также сюда относят некоторые ферменты, имеющие наибольшее клиническое значение (аспартатаминотрансфераза – АСТ, аланинаминотрансфераза – АЛТ, гамма-глутамилтранспептидаза ГГТП, щелочная фосфатаза – ЩФ).

### Результаты исследований и их обсуждение

Результаты исследований у взрослых свиней (хряки и супоросные свиноматки) представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Биохимические показатели сыворотки крови свиней

Показатель	Хряки			Супоросные свиноматки		
	Результаты исследований x ± б	Референтные значения		Результаты исследований x ± б	Референтные значения	
		(1)	(2)		(1)	(2)
ОБ (г/л)	72,8 ± 6,4	65–80	60 ± 85,6	80,7 ± 4,6	65–75	71,5 ± 89,9
СА (г/л)	40,6 ± 7,1	35–45	26,4–54,8	38,7 ± 2,1	30–45	36,6 ± 40,8
Гамма-глобулины (г/л)	32,2 ± 3,4	28–35	25,8 ± 38,6	41,9 ± 4,4	25–35	17,0 ± 29,8
Глюкоза (ммоль/л)	3,6 ± 0,6	5,2–6,5	2,4 ± 4,8	2,8 ± 0,3	4,2–5,2	2,2 ± 3,1
ОХ (ммоль/л)	1,8 ± 0,4	1,4–3,5	1,0 ± 2,6	1,9 ± 0,5	1,8–3,4	0,9 ± 2,9
Билирубин общий (мкмоль/л)	2,0 ± 0,5	4–12	1,0 ± 3,0	2,2 ± 0,8	5–12	0,6 ± 3,8
ЩФ (ИЕ/л)	58,3 ± 18,1	42–102	22,1 ± 94,5	40,3 ± 10,1	42–84	30,2 ± 50,4
АСТ (ИЕ/л)	47,9 ± 18,8	18–36	11,3–85,5	52,8 ± 6,8	24–42	39,2 ± 66,4
АЛТ (ИЕ/л)	34,9 ± 6,5	24–42	21,9 ± 47,9	47,4 ± 19,8	24–48	7,8 ± 87,0
Гемоглобин (г/л)	162,7 ± 49,2	-	64,3 ± 261,1	-	-	-
Са (ммоль/л)	2,8 ± 0,3	2,5–4,0	2,2 ± 3,4	2,7 ± 0,5	4,8–5,6	1,7 ± 3,7
Р (ммоль/л)	2,0 ± 0,2	1,7–1,3	1,6 ± 2,4	2,4 ± 0,5	1,5–2,7	1,4 ± 3,4
Са / Р	1,4 ± 0,2	-	1,0 ± 1,6	1,2 ± 0,5	-	0,7 ± 1,7
Mg (ммоль/л)	0,9 ± 0,07	1,03–1,44	0,76 ± 1,04	1,2 ± 0,18	1,0–1,44	0,84 ± 1,56
Fe (мкмоль/л)	-	-	-	16,1 ± 6,5	15–38	3,1 ± 29,1

Наиболее сложным этапом при проведении подобных исследований является оценка полученных результатов и формирование обоснованного заключения. Важным фактором, оказывающим влияние на интерпретацию результатов, является понятие «нормы», то есть какие значения приняты за «нормальные», характерные для здоровых животных (так называемые референтные значения), с которыми следует сравнивать результаты исследований. Как и всегда в подобных исследованиях, когда анализируемый показатель подвержен влиянию многих факторов и нет возможности исключить случайные ошибки, результаты всегда будут иметь вероятностный характер. Именно поэтому в подобных исследованиях всегда прибегают к услугам статистики.

Для оценки полученных результатов при проведении подобных исследований используют референтные данные, полученные при обследовании больших групп клинически здоровых животных (1) и статистическое правило двух стандартных отклонение, в соответствии с которым референтные значения должны укладываться в интервал  $x \pm 2b$  (2) (таблица 1).

С использованием методических указаний, разработанных для оценки биохимических показателей сельскохозяйственных животных при проведении массовых обследований в хозяйствах, у ряда животных было установлено более низкое содержание глюкозы (гипогликемия), низкие значения общего билирубина и содержания кальция у свиноматок, высокие значения АСТ и АЛТ, выходящие за пределы референтных значений.

Если же использовать правило двух стандартных отклонений, то все эти показатели укладываются в пределы референтных значений.

Это наиболее часто используемые и широко апробированные методы оценки при проведении клинико-биохимических исследований. Существует еще целый ряд регламентирующих документов, допускающих использование в качестве референтных и другие значения, утвержденные отдельными организациями и используемые в качестве «нормы» [7], [8].

Так, при оценке результатов исследований клинического состояния свиного поголовья, проведенных областной ветеринарной лабораторией, в качестве референтных использовались результаты, изложенные в ТНПА (МУ утв. ГУ «БГВЦ» РБ № 02-1-30/366 от 20.12.2016). У отдельных животных были низкие значения глюкозы в крови (за пределами референтных значений), повышенная активность щелочной фосфатазы, высокое содержание мочевины и неорганического фосфора.

Однако при исследовании  $\alpha$ -амилазы, проведенного той же областной лабораторией, было установлено, что ее активность в 15–30 раз превышает нормативные значения. Такая гиперферментемия возможна только при тяжелых формах острого панкреатита, сопровождающегося выраженными клиническими симптомами и общим тяжелым состоянием. Это хорошо установлено и для человека и подтверждено для животных (свиней, собак, кошек). Так как трудно предположить, что все свиноголовье комплекса находилось в таком состоянии, то, очевидно, были неверно использованы референтные значения или имела место системная погрешность при самом определении в лаборатории. Для определения  $\alpha$ -амилазы существует около сотни методов, многие из которых отличаются единицами измерений и условиями проведения. Поэтому в справочниках чаще всего избегают приводить референтные значения по этому показателю, так как без указания конкретного метода и единиц измерения сравнительную оценку проводить невозможно.

Во второй серии опытов клинико-биохимические исследования проводились по методике проведения научных исследований, при которых имеется контрольная группа, подобранная по принципу аналогов, что значительно облегчает проведение сравнительного анализа и обоснованности сделанных выводов (таблица 2).

Таблица 2. – Биохимические показатели сыворотки крови коров с жировой дистрофией печени

Показатель	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

Примечание – \* P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\* P < 0,001 по сравнению со здоровыми животными.

В таблице 2 приведены биохимические показатели сыворотки крови коров с жировой дистрофией печени, которая была установлена в результате гистологического исследования после убоя животных. В этой серии исследований отмечалось статистически достоверное увеличение активности ферментов АСТ и ЩФ, что свидетельствует о наличии синдрома цитолиза, снижение содержания ХЭ (холинэстеразы) и СА (сывороточного альбумина), говорящие о нарушении синтетической способности печени, а также увеличение общего холестерина (обычно связано с нарушением билиарной системы). Однако следует иметь ввиду, что все эти выводы были сделаны при сравнении результатов с аналогичными показателями контрольной группы, что в условиях массовых исследований в хозяйствах обеспечить невозможно.

### Выводы

1. Исследования биохимических показателей являются необходимым элементом программы клинико-лабораторных исследований, проводимых как в целях массовых обследований больших

групп животных (скрининг), так и при установлении диагноза и контроля течения заболевания, а также лечения больных животных (мониторинг).

2. При проведении диспансеризации в условиях хозяйства, с целью обнаружения животных с отклонениями от нормативных значений или находящихся на доклинической стадии заболевания, необходимо выбрать правильную референтную базу.

3. Наилучшим вариантом используемых для оценки результатов референтных значений является создание собственной нормативной базы с учетом исследуемого контингента животных и возможностей конкретной клинико-биохимической лаборатории (методов и оборудования).

#### СПИСОК ОСНОВНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Методические указания по исследованию биохимического состава крови животных с использованием диагностических наборов / С. В. Петровский [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2017. – 48 с.
2. Холод, В. М. Клиническая биохимия : учеб. пособие : в 2 ч. / В. М. Холод, А. П. Курдеко. – Витебск : УО ВГАВМ, 2005. – Ч. 1. – 188 с.
3. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск : Ураджай, 1988. – 168 с.
4. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики / под ред. Кондрахина И. П. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.
5. Холод, В. М. Биохимический мониторинг состояния здоровья крупного рогатого скота / В. М. Холод, Ю. Г. Соболева // Ученые записки / Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2018. – Т. 54, вып. 2. – С. 80–83.
6. 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.
7. Рекомендации по клинико-биохимическому контролю состояния здоровья свиней / А. П. Курдеко [и др.]. – Горки : БГСХА, 2013. – 56 с.
8. 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.

*Поступила в редакцию 20.11.2018*

E-mail: yugsoboleva@yandex.ru

Yu. G. Soboleva, V. M. Holod, V. P. Baran, I. V. Kotovich, D. S. Konotop

#### ROLE OF BIOCHEMICAL STUDIES IN THE ASSESSMENT OF CLINICAL STATUS OF FARM ANIMALS

The use of biochemical studies in assessment of clinical status of animals is necessary in both ways: during the mass research of animals at clinical examination (screening) and in diagnosis and treatment of sick animals (monitoring).

Keywords: biochemical studies, metabolism, reference values, results assessment, swine, cattle.