

**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ ТВАРИН ТА КЛІНІЧНА ІНТЕРПРЕТАЦІЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

**Методичні рекомендації
для студентів факультету ветеринарної медицини
та слухачів Інституту післядипломного навчання
керівників і спеціалістів ветеринарної медицини**

**Біла Церква
2002**

УДК 619:616.1–074:543.5

Затверджено Радою
факультету ветеринарної медицини
(Протокол № 2 від 18.10.2001 р.)

**Склали: В.І. Левченко, В.М. Соколюк, В.М. Безух,
М.Я. Тишківський, В.О. Гарькавий, В.П. Надточій,
В.М. Надточій, В.П. Москаленко, М.М. Костюк,
Г.О. Щуревич, Л.М. Богатко, В.В. Сахнюк,
В.І. Головаха, О.В. Чуб, Л.Г. Слівінська,
Ш.М. Абдуллаєв**

Дослідження крові тварин та клінічна інтерпретація отриманих результатів: Методичні рекомендації для студентів факультету ветеринарної медицини керівників та слухачів Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини / В.І. Левченко, В.М. Соколюк, В.М. Безух та ін. – Біла Церква, 2002.– 56 с.

У рекомендаціях описано фізичне, морфологічне та хімічне дослідження крові тварин.

Рецензент – доцент **В.Л. Тарасевич**

© БДАУ, 2002

ВСТУП

Діагностичне значення дослідження крові

Потреба у дослідженні крові визначається, передусім, її фізіологічним значенням і змінами, які настають у ній при різних патологічних станах.

Кров у ветеринарній медицині досліджують з метою постановки діагнозу, особливо за прихованого перебігу захворювання, оскільки ще до появи клінічних симптомів серологічними дослідженнями можна діагностувати бруцельоз, лептоспіроз, пулороз птиці, біохімічними – порушення обміну речовин. Морфологічний аналіз крові використовують для діагностики піроплазмідозів, лейкозу, інфекційної анемії коней, анемії незаразної етіології.

У кров виділяються продукти життєдіяльності різних органів, за вмістом яких можна визначити їх функціональний стан. За результатами дослідження крові контролюють ефективність лікування тварини, оздоровлення господарств від різних інфекційних захворювань (лейкоз, бруцельоз), передбачають прогноз захворювання.

Важливе значення у профілактиці внутрішніх хвороб має планова диспансеризація, одним із етапів якої є дослідження крові. У практику лабораторій ветеринарної медицини надійно ввійшли методи визначення загального білка в сироватці крові, кислотної ємності, загального кальцію, неорганічного фосфору, каротину, кетонів, глюкози. Своєчасне проведення цих досліджень дозволяє виявити субклінічні форми порушення обміну речовин, призначити групове використання засобів етіотропної, замінної та патогенетичної терапії.

Методики біохімічних досліджень крові описані в підручниках, навчальних посібниках та методичних рекомендаціях. Однак у них рідко приводиться інтерпретація результатів дослідження, їх клінічне пояснення, значення для постановки діагнозу. Це утруднює їх використання як з навчальною метою, так і у ветеринарній практиці.

Методичний посібник розрахований на студентів факультету ветеринарної медицини, а також може бути використаний для практичних лікарів ветеринарної медицини та слухачів Інституту післядипломного навчання керівників і спеціалістів ветеринарної медицини.

Взяття крові у тварин

Невелику кількість крові, необхідну для морфологічного дослідження, у тварин можна отримати із вен вушної раковини. Перед взяттям

крові місце проколу вистригають, дезінфікують спиртом або ефіром. Вену перетискують ближче до основи вушної раковини, потім проколюють її під прямим кутом стерильною ін'єкційною голкою. Для створення твердої основи вухо з протилежної сторони підтримують пальцем, з накладеним на нього ватним тампоном. Для діагностики піроплазмідозів мазки готують із першої краплі крові, яка з'явилася із судини. При малому витіканні кров видавлювати не можна. У курей кров отримують із гребеня або сережки, у гусей і качок – із м'якоті ступні кінцівок, у хутрових звірів – з м'якуша пальця.

Велику кількість крові у великих тварин (коні, велика і дрібна рогата худоба, свині, верблюди) беруть із яремної вени. У свиней, крім цього, кров можна взяти із великих судин вуха, орбітального синуса або із хвостової вени. В останньому випадку кінчик хвоста вистригають, а потім гострим скальпелем роблять надріз його вентральної поверхні. У собак та інших м'ясоїдних кров отримують із судин кінцівок, у кролів – з вушної, птахів – з підкрилової вен. Для попередження гемолізу кров має поступати в пробірку по стінці.

Для отримання сироватки кров беруть у чисту суху пробірку або інший посуд і ставлять у тепле місце. Якщо ретракція не відбулася, тоді тонкою скляною паличкою (краще голкою для аортопункції) відділяють згусток від стінки пробірки. Рідку частину крові центрифугують при 3000 обертах протягом 10–15 хв. Для одержання плазми необхідно запобігти згортанню крові. З цією метою до неї додають антикоагулянти (табл. 1). Потім кров центрифугують при 3000 обертах 15 хвилин, або при 1500 об/хв – 20–30 хв. Для підрахунку еритроцитів стабілізовану кров можна зберігати в холодильнику при +4 °С протягом 72 год, для підрахунку лейкоцитів і приготування мазків – не більше 24 год.

Таблиця 1 – Антикоагулянти та їх дози (в розрахунку на 10 мл крові)

Назва	Одиниця вимірювання	Кількість
Натрію цитрат	мг	30–50
5 %-ний розчин натрію цитрату	мл	1
Натрію оксалат	мг	15
Калію оксалат	мг	15
20 %-ний водний розчин натрію або калію оксалату	мл	0,3–0,5
10 %-ний розчин натрію фториду	мл	0,3–0,5
10 %-ний розчин трилону Б	краплі	6–8
0,5 %-ний розчин гепарину	мл	0,3–0,4

У практиці ветеринарної медицини проводять фізичне, хімічне, морфологічне, серологічне і бактеріологічне дослідження крові.

1. ФІЗИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ

1.1. Визначення відносної густини крові

Відносна густина крові характеризує відношення між щільними складовими крові і водою. Вона залежить від вмісту в крові гемоглобіну, білків та солей. Найбільш простий метод визначення (за Гаммершлягом) полягає в опусканні краплі крові у суміш хлороформу і бензолу (20:50). При однаковій відносній густині крові і суміші крапля займає середнє положення в циліндрі. Потім ареометром вимірюють відносну густину суміші.

Метод Філінса більш надійний. Для його виконання готується основний розчин міді сульфату з відносною густиною 1,1 (159,6 г солі розчиняють в 1 л води). Потім у кількох циліндрах готуються робочі розчини з відносною густиною, близькою до густини крові: 1,030; 1,035; 1,040; 1,060. Для приготування розчину з відносною густиною 1,040 необхідно відміряти у циліндр 40 мл основного розчину міді сульфату і 60 мл дистильованої води; 1,045 – відповідно 45 і 55 мл і т.д. Рідини необхідно перемішувати. Потім у кожний циліндр з приготовленим розчином піпеткою обережно опускають 1–2 краплі свіжої крові досліджуваної тварини і відмічають той із них, у якому крапля буде знаходитися протягом 3–5 с у середній частині циліндра (не спливати і не опускатись на дно). Відносна густина досліджуваної крові буде відповідати густині рідини в цьому циліндрі (табл. 2).

Таблиця 2 – Відносна густина крові здорових тварин, г/см³ або кг/л

Вид тварин	Коливання
Велика рогата худоба	1,045 – 1,055
Вівці, кози	1,047 – 1,055
Коні	1,045 – 1,055
Свині	1,042 – 1,060
Собаки	1,044 – 1,056
Кролі	1,048 – 1,060
Кури	1,039 – 1,057

Збільшення відносної густини спостерігається при поліцитемії, згущенні крові внаслідок втрати води, що спостерігається при діареях різної етіології, поліурії, утворенні ексудатів і трансудатів, блюванні, надмірному потінні; **зменшення** є характерною ознакою анемії різної етіології, хакексії, гідремії.

1.2. Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ)

Осідання – це властивість еритроцитів осідати на дно посудини при зберіганні стабілізованої крові. На осідання еритроцитів діють багато факторів. Головними із них є кількісні та якісні зміни білків плазми крові. Збільшення вмісту крупнодисперсних білків (глобулінів, фібриногену) призводить до підвищення ШОЕ, оскільки вони сприяють процесу аглютинації еритроцитів. На підвищення ШОЕ впливає збільшення холестерину в крові, зрушення кислотно-лужної рівноваги плазми в бік алкалозу, зменшення кількості еритроцитів і збільшення їх об'єму.

Зниження ШОЕ буває при збільшенні вмісту дрібнодисперсних білків (альбумінів), кількості еритроцитів, зменшенні їх об'єму і насичення гемоглобіном (гіпохромія), збільшенні вмісту в крові жовчних кислот, ацидозі.

Принцип визначення ШОЕ. Кров беруть із судин кінчика вуха чи яремної вени, змішують з 5 %-ним розчином натрію цитрату у співвідношенні 1:4, набирають у градуйовану піпетку або пробірку, ставлять їх вертикально в штативі. ШОЕ визначають через годину.

Метод Панченкова. Прилад Панченкова складається з дерев'яного або пластмасового штатива з гніздами і скляних капілярів з мітками 0, К, Р. Мітки 0 і К знаходяться на одному рівні – 100 мм від кінця піпетки. На початку роботи капіляр змочують 5 %-ним розчином натрію лимоннокислого. Потім розчин набирають до мітки Р (50 мм), переносять його на предметне скло або у фарфорову чашку. Із судин вуха піпеткою беруть кров до мітки К і змішують її з натрію цитратом. Стабілізовану кров набирають у піпетку до мітки 0 і ставлять у штатив. У зв'язку з тим, що у тварин (крім коней і свиней) ШОЕ невелика, піпетки інколи ставлять не вертикально, а під кутом 50°. Швидкість осідання еритроцитів визначають за висотою стовпчика плазми, який знаходиться над осадом крові (у мм).

Метод Неводова. Кров беруть у спеціальну пробірку, куди попередньо вносять порошок натрію лимоннокислого, або 1 мл його 5 %-ного розчину. Кров набирають до мітки 0, обережно перемішують кілька разів, перевертаючи пробірку, і ставлять в штатив. ШОЕ визначають через 15, 30, 45, 60 хв і 24 год. Середню швидкість визначають діленням суми результатів 4-х вимірювань на кількість вимірювань.

Нормативи ШОЕ у тварин різних видів значно відрізняються (табл. 3).

Таблиця 3 – Швидкість осідання еритроцитів у здорових тварин, мм

Вид тварин	Метод дослідження				
	за Панченковим через 1 год		за Неводовим через		
	вертикальне положення піпетки	піпетка під кутом 50°	15 хв	1 год	24 год
Коні	40–70	–	30–40	62–65	65–70
Велика рогата худоба	0,5–1,5	17–24	0,1–0,3	0,6–0,8	1–2
Вівці	0,5–1,0	12–25	0,1–0,3	0,7–1,0	1–2
Кози	0,3–1,0	10–12	–	0,3–1,0	–
Свині	2–9	–	2–5	20–35	25–40
Собаки	2–6	30–33	0–0,4	2,0–3,5	3–5
Кролі	1–2	26–32	0–0,1	1,0–2,0	1,5–2,5

ШОЕ не є специфічною для якого-небудь захворювання, але її зміни завжди є показником наявності патологічного процесу в організмі. ШОЕ має діагностичне та прогностичне значення і може бути показником ефективності лікування. *Збільшенням* ШОЕ супроводжуються: інфекційно-запальні процеси, нефрит і нефроз, які перебігають з гіпопротеїнемією, протеїнурією; гемобластози (підвищення ШОЕ пов'язане з диспротеїнемією, що виникає внаслідок розвитку пухлини у печінці, а також з причини анемії, що розвивається); анемії різної етіології, зокрема, інфекційні та паразитарні, наприклад, при піроплазмідозах; ревматичне запалення копит (внаслідок збільшення кількості фібриногену); деякі хвороби печінки через розвиток гіпоальбумінемії, але при цій патології ШОЕ може зменшуватися через підвищення у крові вмісту жовчних кислот.

Уповільнення ШОЕ у тварин буває рідше й спостерігається при захворюваннях, що супроводжуються втратою рідини і загущенням крові (діарея, поліурія), механічною і паренхіматозною жовтяницями, при стахіботріотоксикозі, кольках, декомпенсації серцевої діяльності.

1.3. Визначення величини гематокриту

Гематокритна величина – це відношення об'єму формених елементів крові (еритроцитів) до загального об'єму взятої на дослідження крові. Для визначення величини гематокриту застосовують методи мікроцентрифугування за Шклярком, центрифугування у градуйованих піпетках із приладу Панченкова за Й.Тодоровим та електронно-автоматичні.

Метод Тодорова. Стабілізовану кров набирають у піпетки із приладу Панченкова до мітки 0. Кінці піпеток закривають гумовим кільцем або кришкою. Піпетки центрифугують при 1500 об/хв протягом 1–1,5 год

або при 3000 об/хв – півгодини. Потім визначають частину піпетки, яку займають еритроцити.

Електронно-автоматичний метод. У приладах типу “Целлоскоп”, “Культер” визначення гематокритної величини відбувається одночасно з підрахунком червоних кров’яних тілець. Величина електричних імпульсів, які виникають при проходженні клітин через капіляр, прямо пропорційна їх об’єму. За допомогою спеціальної електронної апаратури сила імпульсів додається і отримана сума ділиться на загальну кількість еритроцитів. Загальний об’єм еритроцитів вираховується шляхом множення цієї цифри на їх кількість.

Клінічне значення. Гематокритну величину вираховують у процентах, за міжнародною системою (SI) – в м³/м³ або в л/л. Наприклад, 45 % або 0,45 м³/м³, або 0,45 л/л (табл. 4).

Збільшення величини гематокриту буває при захворюваннях, що супроводжуються згущенням крові, наприклад, при діареях, поліцитемії. Цей показник використовують для визначення ступеня зневоднення новонароджених телят при захворюваннях з діарейним синдромом інфекційної та незаразної етіології.

Зменшення гематокритної величини спостерігають при анеміях різної етіології, гідремії.

Таблиця 4 – Показники гематокритної величини та середнього об’єму еритроцитів у здорових тварин

Вид тварин	Гематокритна величина, у процентах		Середній об’єм еритроцитів, мкм ³
	коливання	середнє	
Велика рогата худоба	35 – 45	40	56
Телята	30 – 40	35	50
Вівці	25 – 40	30	31
Свині	35 – 43	39	58
Коні	35 – 45	40	50
Собаки	30 – 50	41	65
Кролі	35 – 45	40	68
Кури	38 – 42	40	127

Величина гематокриту використовується для визначення середнього об’єму одного еритроцита, який визначають діленням її показника на кількість еритроцитів в 1 мкл крові і виражають у кубічних мікрометрах (мкм³). Наприклад, гематокритна величина 50 %, тобто в 1 мкл крові еритроцити займають об’єм 0,5 мкл або 500 млн. мкм³, а кількість еритроцитів – 5 млн в 1 мкл. Середній об’єм еритроцита дорівнює:

$$\frac{500000000}{5000000} = 100\text{мкм}^3.$$

Цей показник використовують для характеристики окремих видів анемії. Збільшення об'єму еритроцитів (макроцитоз) спостерігається при мегало- і макроцитарних анеміях, а його зменшення (мікроцитоз) – при залізодефіцитних анеміях.

1.4. Визначення швидкості згортання крові

Із всіх методів визначення згортання крові найбільш зручний і простий – метод Моравця. На предметне скло наносять краплю крові діаметром 4–6 мм і кожні 30 с у неї опускають тоненький скляний капіляр. Швидкість згортання крові визначають з появою першої нитки фібрину при витягуванні капіляра з крові. У середньому швидкість згортання крові становить: у великої рогатої худоби – 5–6 хв, овець – 8–10, коней – 8–10, свиней – 10–15, собак – 5–6, кролів – 4, курей – 30–50 с.

Швидкість згортання крові *підвищується* при крововтратах і захворюваннях, що супроводжуються згущенням крові, а *знижується* – при анеміях, лейкозі, асфіксії, холемії, нефриті, К- і С-гіповітамінозах. Кров майже не згортається при гемофілії, сибірці, інфекційній анемії, піроплазмідозах.

1.5. Визначення ретракції кров'яного згустку

Ретракція – це самовільне відокремлення сироватки крові від її згустку при відстоюванні. Відношення сироватки, що відокремилася від згустку, до об'єму взятої крові, називають *коефіцієнтом (індексом)* ретракції. Залежить ретракція від вмісту в крові кальцію, фібриногену, тромбоцитів, виду тварин, температури тіла тварини і навколишнього середовища. У здорових тварин часткова ретракція настає через 1–3 год, а повна – 12–24 год, індекс ретракції становить 0,3–0,7. Зниження ретракції кров'яного згустку або повна її відсутність (ірретрактильність) спостерігається при лейкозі та мікотоксикозах.

1.6. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів

Резистентність еритроцитів – це їхня властивість протистояти руйнівній дії: осмотичній, механічній, тепловій та ін. Осмотична резистентність визначається стійкістю еритроцитів до гіпотонічних розчинів натрію хлориду. Ізотонічним розчином, в якому еритроцити зберігають свою форму та величину, є 0,85–0,9 %-ний розчин натрію хлориду. У гіпертонічному розчині еритроцити зморщуються, у гіпотонічному – набрякають та гемолізуються.

Початкова стадія гемолізу найменш стійких еритроцитів, яка з'являється в гіпотонічному розчині натрію хлориду, близькому до ізотонічного, визначає мінімальну резистентність еритроцитів. Концентрація гіпотонічного розчину, яка викликає повний гемоліз, визначає максимальну осмотичну резистентність еритроцитів.

Тому визначення максимальної і мінімальної стійкості дозволяє міркувати про процеси регенерації крові. *Зниження* осмотичної резистентності відмічається при голодуванні, анеміях, отруєннях, посиленні функцій кісткового мозку.

Підвищення осмотичної стійкості еритроцитів проявляється при ослабленні еритропоетичної функції кісткового мозку, дії гемолітичних отрут.

Методика визначення. Готують розчини натрію хлориду різної концентрації (від 0,8 до 0,2 %), потім до них додають по 0,02 мл крові і залишають при кімнатній температурі на 1 год. Пробірки центрифугують і визначають початок гемолізу за легким порозовінням розчину, а повний гемоліз – за інтенсивним червоно-лаковим кольором розчину, в осаді якого еритроцити повністю розчинились. У здорових тварин гемоліз починається в пробірці з 0,5 %-ним розчином натрію хлориду.

1.7. Визначення кислотної резистентності еритроцитів

Принцип методу дослідження дисперсії еритроцитів за стійкістю до кислотного гемолітика (метод еритрограм) полягає у фотоелектричній реєстрації вибуття еритроцитів у процесі гемолізу за стабільних умов.

Еритрограма, побудована на вимірюванні розподілу за кислотною стійкістю еритроцитів периферичної крові, відображає стан системи еритрона і реагує закономірними змінами на вихід цієї системи із рівноваги. Стимуляція еритроцитопоезу відображається на еритрограмі у вигляді розтягування і підняття правого крила. Пригнічення еритроцитопоезу змінює форму еритрограми у протилежному напрямі: відповідно із старінням крові настає скорочення еритрограми, пік еритрограми зміщується вліво від нормального положення.

У нормі протягом усього життя еритроцита в судинному руслі його стійкість зменшується з віком. Найбільш молоді еритроцити мають найбільшу стійкість, а тому займають в еритрограмі крайнє праве положення. Циркуючи у кровотоці, вони дозрівають і в подальшому старіють. Ці процеси супроводжуються поступовим зниженням стійкості еритроцитів, що відображається зміщенням еритрограми вліво. До кінця життя клітини її стійкість знижується до мінімального значення.

Посуд та обладнання: центрифужні та хімічні пробірки, капіляр від гемометра Салі, скляні піпетки на 2 та 10 мл, центрифуга, фотоелектроколориметр (КФК-3).

Реактиви: 0,85 %-ний розчин натрію хлориду, 0,00005 N-ий розчин HCl у 0,85%-ному розчині натрію хлориду.

Методика визначення. Кров для досліджень відбирають у центрифужні пробірки, куди попередньо додають гепарин у розрахунку 10 МО на 10 мл крові. Плазму крові відділяють шляхом центрифугування (1500 об/хв, 20 хв). Еритроцити тричі відмивають охолодженим до 4 °С 0,85 %-ним розчином натрію хлориду з наступним центрифугуванням при тих самих умовах. Суспензію еритроцитів (0,02 мл) відбирають капіляром від гемометра Салі і переносять у пробірку, куди попередньо додають 10 мл 0,85 %-ного розчину натрію хлориду. Капіляр промивають у верхньому шарі розчину і вміст пробірки ретельно перемішують.

Вимірювання оптичної щільності розчинів проводять на КФК-3 при довжині хвилі 540 нм (кювета 10 мл) проти контролю (0,85 %-ний розчин натрію хлориду). В дослідну кювету вносять 2 мл 0,00005 N-го розчину соляної кислоти в 0,85 %-ному розчині натрію хлориду і додають 2 мл 0,2 %-ної суспензії еритроцитів. Зміни екстинції записують відразу після перемішування розчинів через кожні 30 с до постійного показника. Різницю між початковою і кінцевою (по закінченні гемолізу) оптичною щільністю приймають за 100 % і вираховують процент ΔE , який відображає відносний процент негемолізованих еритроцитів через кожні 30 с. Отримані дані зображують графічно.

2. МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ

У клінічній практиці дослідження морфологічного складу крові включає: підрахунок еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів, виведення лейкограми, вивчення патологічних змін крові.

2.1. Підрахунок кількості еритроцитів

Підрахунок еритроцитів проводять за допомогою мікроскопа в лічильних камерах або із застосуванням різних електронних лічильників.

Меланжерний метод підрахунку еритроцитів

Посуд, реактиви, обладнання: еритроцитарні меланжери, лічильні камери з сіткою Горяєва, мікроскопи, 3 %-ний розчин натрію хлориду.

Методика визначення. Набирають кров у меланжер до мітки 0,5 або 1 (розбавлення відповідно у 200 або 100 разів). Кінчик меланжера витирають ватою. Для правильного наповнення меланжер тримають спочатку під кутом, а потім переводять у вертикальне положення. 3 %-ний розчин натрію хлориду набирають до мітки 101 (обережно, щоб в ампулу не потрапило повітря). Знімають гумову трубочку, меланжер закривають з обох кінців пальцями і струшують. Отримують розведення крові у 100 (якщо кров набрали до мітки 1) або у 200 разів. До лічильної камери притирають покривне скло так, щоб були помітні райдужні кільця. Із меланжера видаляють на вату перші 2–3 краплі розведеної крові, а наступною краплею торкаються збоку до покривного скла і середньої пластинки камери. Внаслідок капілярності рідина заповнює камеру. Зайву рідину видаляють ватою. Якщо у лічильну камеру потрапило повітря, то покривне скло необхідно зняти, камеру витерти насухо і всю роботу повторити.

Підрахунок еритроцитів проводять при малому збільшенні мікроскопа (ок. 10–15; об. 8). Клітини підраховують у п'яти великих квадратах, розміщених по діагоналі сітки, кожний з яких розділений на 16 маленьких квадратів. Клітини у великому квадраті починають рахувати з лівого верхнього маленького квадрата, а потім переходять на другий, третій, четвертий. Після верхнього ряду рахують еритроцити у нижче розміщеному ряду, починаючи з першого правого квадрата і т. д. Рахують еритроцити, що знаходяться всередині маленьких квадратів, а також на лівому і верхньому боках великого квадрата, а еритроцити на нижньому і правому боках не враховують.

Кількість еритроцитів (X) в 1 мкл крові визначають за формулою:

$$X = \frac{a \times c}{n \times s \times h},$$

де: a – кількість еритроцитів, підрахованих у п'яти великих квадратах; c – розбавлення крові (у 200 або 100 разів); n – кількість квадратів, у яких рахували еритроцити; s – площа великого квадрата ($1/25 \text{ мм}^2$); h – висота камери (0,1 мм). Скорочена формула має вигляд: $X = a \cdot 10\,000$ (при розведенні крові у 200 разів).

Серед змін еритроцитів частіше спостерігають зменшення їх кількості нижче мінімальних фізіологічних показників – *еритроцитопенія (олігоцитемія)*. Вона зустрічається при анеміях, зумовлених недостатньою годівлею (нестача білків, вітамінів B₂, B₁₂, B₆, C, кобальту, заліза, міді), пригніченні функції кісткового мозку при інтоксикаціях, отруєнні гемолітичними отрутами, крововтратах, піроплазмідозах, злоякісних утвореннях, у клінічній стадії лейкозу.

Збільшення кількості еритроцитів – еритроцитоз (поліцитемія) буває фізіологічним (у гірській місцевості, у крові новонароджених) і патологічним. У свою чергу патологічна поліцитемія за походженням буває відносною та абсолютною. Відносна поліцитемія спостерігається при втраті організмом води і згущенні крові внаслідок різних хвороб, які супроводжуються діареєю, блюванням, абсолютна – при хворобах серця і легень.

Підрахунок еритроцитів пробірковим методом М.П. П'ятницького (Ніколаєва)

Посуд, обладнання: скляні піпетки об'ємом 5 мл або автоматичні дозатори; капілярні піпетки об'ємом 0,02 мл; пробірки Флоринського з пробками (короткі) або флакони з-під антибіотиків.

Реактиви: 3 %-ний розчин натрію хлориду.

Методика визначення. Піпеткою П'ятницького у флакон або пробірку відмірюють 3,98 мл (4 мл за Ніколаєвим) 3 %-го розчину натрію хлориду. Капілярною піпеткою набирають 0,02 мл крові і вносять у розчин натрію хлориду. Флакони закривають пробками і суміш перемішують. Одержують розведення 1:200 (1:201). Заряджають лічильну камеру і ведуть підрахунок клітин так само, як і при розведенні крові меланжерним методом. При роботі з нестабілізованою кров'ю капіляр та піпетки на 0,02 мл необхідно змочити антикоагулянтом.

2.2. Підрахунок кількості лейкоцитів

Існує кілька методів підрахунку кількості лейкоцитів: меланжерний, пробірковий та електронно-автоматичний.

Підрахунок кількості лейкоцитів меланжерним методом.

Обладнання: скляні піпетки та піпетки П'ятницького, автоматичні дозатори, лейкоцитарні меланжери, камера з сіткою Горяєва, мікроскоп.

Реактиви: рідина Тюрка (3 %-ний розчин оцтової кислоти, забарвлений 1 %-ним розчином метиленового синього).

Методика визначення. У меланжер набирають до мітки 0,5 або 1 кров, а потім до мітки 11 – рідину Тюрка. Одержують розведення у 20 або 10 разів. Готують лічильну камеру, дотримуючись тих же правил, що і при підрахунку еритроцитів.

Підрахунок лейкоцитів проводять у 100 великих чистих квадратах сітки Горяєва при малому збільшенні мікроскопа (ок. 15, об. 8) у затемненому полі зору. Кількість лейкоцитів у одному мікролітрі крові (X) визначають за формулою:

$$X = \frac{a \times c}{n \times s \times h},$$

де: a – кількість підрахованих лейкоцитів; c – розбавлення крові (у 10 або 20 разів); n – кількість квадратів (100); s – площа великого квадрата ($1/25 \text{ мм}^2$); h – висота камери (0,1 мм).

Підрахунок лейкоцитів за методом П'ятницького (Ніколаєва)

Обладнання: скляні піпетки та піпетки П'ятницького на 0,38 мл, капіляри об'ємом 0,02 мл, лічильні камери з сіткою Горяєва, мікроскоп, пробірки Флоринського або флакони з-під антибіотиків.

Реактиви: рідина Тюрка.

Методика визначення. У пробірки Флоринського або флакони піпеткою П'ятницького вносять 0,38 мл (0,4 мл за методом Ніколаєва) розчину Тюрка, додають 0,02 мл крові. Отримують розведення у 20 (21) разів. Перемішують і заправляють лічильну камеру. Підрахунок лейкоцитів ведуть так само, як і при використанні меланжерного методу. Кількість лейкоцитів вираховують за такою самою формулою.

Кількість лейкоцитів залежить від виду тварин, віку та фізіологічного стану. *Збільшення* кількості лейкоцитів у крові називають *лейкоцитозом*, який буває фізіологічним, медикаментозним, реактивним і патологічним.

Зменшення кількості лейкоцитів називається *лейкопенією*. Вона частіше розвивається при інтенсивному радіоактивному опроміненні.

2.3. Підрахунок еритроцитів та лейкоцитів на ГЦМК-3

ГЦМК-3 – це електронно-кондуктометричний прилад, призначений для підрахунку еритроцитів і лейкоцитів у крові.

Принцип методу. За допомогою гідросистеми приладу проба засмоктується у датчик, показання якого фіксуються мікроамперметром. За показаннями мікроамперметра і за таблицями, які додаються до кожного приладу, визначають кількість еритроцитів чи лейкоцитів у відповідній пробі.

Обладнання: гемоцитометр ГЦМК-3, дозатор А-2, дозатор піпетковий на 20 мкл (П1), піпетка на 0,1 мл або очна піпетка, піпетка Салі на 20 мкл, мірний циліндр на 100 мл, колби для приготування розчинів, лійки скляні, фільтрувальний папір, пробірки для розведення крові, скляні палички для перемішування суспензії.

Реактиви: 0,9 %-ний розчин натрію хлориду, 8 %-ний розчин гіпсофіліну.

Попередження: при перемішуванні суспензій не допускати появи піни.

Методика визначення. Гемоцитометр перед роботою підготувати згідно інструкції з експлуатації приладу.

1. Підрахунок еритроцитів. Піпеткою Салі беруть 20 мкл крові і розводять у 5 мл 0,9 %-ного розчину натрію хлориду, перемішують.

Дозатором П1 набирають 20 мкл приготованої суспензії і додавають до 10 мл 0,9 %-ного розчину натрію хлориду, перемішують. Це розведення (1:125000) використовують для підрахунку еритроцитів.

2. Підрахунок лейкоцитів. Піпеткою Салі беруть 20 мкл крові і розводять у 5 мл 0,9 %-ного розчину натрію хлориду, потім додають одну краплю (0,05 мл) 8 %-ного розчину гіпсофіліну. Перемішують суспензію, через 3-4 хвилини (але не пізніше 10-ти хвилин) проводять підрахунок лейкоцитів у піддіпазоні “Л1”. Якщо в цьому піддіпазоні стрілка мікроамперметра перевищує поділку “100”, то підрахунок клітин повторюють у піддіпазоні “Л 2”. Якщо і в цьому піддіпазоні стрілка приладу відхиляється за поділку “100”, до проби додають 10 мл 0,9 %-ного розчину натрію хлориду, перемішують і повторюють підрахунок лейкоцитів у цьому ж піддіпазоні. Результат підрахунку у такому випадку множать на 2. Один робочий цикл приладу з підрахунку клітин триває 10 с. Кількість формених елементів крові у тварин наведена у табл. 5.

Таблиця 5 – Кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів у крові тварин

Вид тварин	Еритроцити, млн/мкл; Т/л	Лейкоцити, тис./мкл; Г/л	Тромбоцити, тис./мкл; Г/л
Велика рогата худоба	5–7,5	6–12	260–700
Вівці	7–12	6–14	270–500
Кози	12–18	8–17	300–900
Коні	6–9	7–12	200–500
Осли	5–7	7–9	200–500
Свині	6–7,5	8–16	180–300
Собаки	5–8,5	8,5–10,5	250–550
Коти	6–9,5	10–20	100–500
Кролі	4,5–7,5	6,5–9,5	80–160

2.4. Підрахунок кількості тромбоцитів

Тромбоцити беруть участь у зсіданні крові, виконують деякі захисні реакції. Утворюються вони у червоному кістковому мозку, тривалість їх існування 5–8 днів.

Підрахунок кількості тромбоцитів проводять у лічильних камерах або забарвлених мазках крові (метод Фонію). Зважаючи на те, що тромбоцити поза кров'яним руслом збираються у купки, в яких підрахувати їх неможливо, необхідно запобігти їх склеюванню. Для попередження аглютинації кров'яних пластинок на місце взяття крові наносять краплю 14 %-ного розчину магнію сульфату. Краплю крові, що виділилася, змішують з розчином і з суміші готують мазки на предметному склі, які фарбують протягом 2–3-х годин за методами Романовського – Гімзи або Паппенгейма. Підраховують кількість тромбоцитів, яка приходить на 1000 еритроцитів, з використанням імерсійної системи мікроскопа. Тромбоцити мають вигляд маленьких (з діаметром 2–3 мкм) утворів круглої або овальної форми, забарвлених у фіолетовий колір, які зрідка розміщені по одному серед еритроцитів. Для полегшення підрахунку використовують спеціальне окулярне вікно (сітчастий окуляр). Підрахунок проводять у 4-х різних ділянках мазка. Знайдену кількість еритроцитів і тромбоцитів записують окремо. Знаючи загальну кількість еритроцитів, легко підрахувати кількість тромбоцитів в 1 мкл крові. У великої рогатої худоби міститься 260–700 тис. у 1 мкл; овець – 270–500; кіз – 300–900; коней – 200–500; у свиней – 180–300 тис. у 1 мкл.

У хворих тварин частіше спостерігається зменшення кількості тромбоцитів: *тромбоцитопенія*, яка зустрічається при більшості інфекційних хвороб, геморагічному діатезі (К- і С-гіповітамінозах), стахіботріотоксикозі, променевої хворобі. Значно рідше спостерігають збільшення кількості тромбоцитів – *тромбоцитоз* після хірургічних операцій, при травмах м'язів, у стадії видужання після інфекційних хвороб.

2.5. Підрахунок кількості клітин крові у птиці

У крові птиці напочатку підраховують загальну кількість клітин в одному мікролітрі. Для цього використовують методику підрахунку еритроцитів у тварин. Потім готують мазки крові, фарбують як і при виведенні лейкограми. У пофарбованих мазках при великому збільшенні мікроскопа під імерсійним об'єктивом підраховують 1000 клітин з поділом їх на еритроцити, тромбоцити та лейкоцити. Потім підраховують кількість клітин окремих видів в 1 мкл крові. Наприклад: при підрахунку у лічильній камері у 1 мкл крові було 3 400 000 клітин. У пофарбованому мазку підраховано еритроцитів – 980, лейкоцитів – 8, тромбоцитів – 12, що у відсотках складає відповідно 98, 0,8 та 1,2 %. Кількість еритроцитів: $3\,400\,000 : 100 \times 98 = 3\,332\,000$ у 1 мкл крові або 3,332 Т/л (табл. 6).

Таблиця 6 – Кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів у крові птиці

Вид птиці	Еритроцити, млн/мкл; Т/л	Лейкоцити, тис./мкл; Г/л	Тромбоцити, тис./мкл; Г/л
Кури	3–4	20–40	32–100
Гуси	2,5–3,5	20,5–30	35–80
Качки	3–4,5	20–40	35–80
Голуби	3–3,5	10–15	10–72

У такий спосіб вираховують також кількість лейкоцитів і тромбоцитів.

2.6. Лейкограма

Визначення загальної кількості лейкоцитів не дає уявлення про кількість окремих видів лейкоцитів. Такі дані можна отримати при дослідженні лейкограми – відсоткового відношення окремих форм лейкоцитів.

Лейкограму визначають на забарвлених мазках периферичної крові диференційованим підрахунком 100 або 200 лейкоцитів за методами Меандра або Філіпченка. Підрахунок проводять при великому збільшенні мікроскопа під імерсійним об'єктивом. За методом Філіпченка підрахунок клітин ведеться на початку, посередині та в кінці мазка або тільки посередині, від одного краю до протилежного. За методом Меандра клітини рахують у чотирьох місцях мазка.

Знаючи загальну кількість лейкоцитів та лейкограму, можна визначити абсолютну кількість клітин кожного виду в 1 мкл крові і вияснити характер лейкоцитозу чи лейкопенії – відносні вони чи абсолютні.

Приготування мазків крові. Мазки крові готують на чистому знежиреному предметному склі. Для цього скло кип'ячать у розчині натрію двовуглекислого, промивають проточною, а потім дистильованою водою. Насухо витерте скло зберігають у банці з притертою кришкою в суміші спирт-ефіру порівну. Перед використанням скло виймають, протирають чистою сухою серветкою, не торкаючись поверхні скла руками.

Краплю крові для мазка беруть з вени вуха. Першу краплю крові витирають, а наступну наносять на середину предметного скла біля одного з його країв. Попереду краплі крові ставлять шліфований край скла під кутом 45–50°. Після розтікання краплі по шліфованому краю, скло рухають по предметному склу до протилежного краю.

Мазок сушать на повітрі. По товстому краю простим олівцем або голкою наносять дату виготовлення, інвентарний номер або кличку тварини. Після висушування мазок фіксують шляхом занурювання в одну з перерахованих речовин: метиловий спирт або ацетон – на 5 хв, абсолютний етиловий спирт чи суміш спирт-ефіру порівну – 15–20 хвилин.

Фарбування мазків. У лабораторіях ветеринарної медицини частіше використовують прискорений метод Романовського – Гімзи. Для цього на висушений мазок наливають 20 крапель фарби Гімза, розведеної порівну метиловим спиртом або ацетоном. Через 2 хвилини до фарбника на мазок приливають 2–3 мл підлуженої дистильованої води (2 мл 1 %-ного двовуглекислого натрію на 50 мл води). Через 10 хв мазок промивають проточною водою. Після висушування на повітрі мазок готовий для виведення лейкограми (табл. 7) .

Таблиця 7 – Лейкограма крові тварин

Вид тварин	Базофіли	Еозинофіли	Нейтрофіли			Лімфоцити	Моноцити
			юні	паличкочерні	сегментоядерні		
Велика рогата худоба	0–2	5–8	0–1	2–5	20–35	40–65	2–7
Коні	0–1	2–6	0–1	3–6	45–62	25–44	2–4
Свині	0–1	1–4	0–2	2–4	40–48	40–50	2–6
Вівці	0–1	4–12	0–2	3–6	35–45	40–50	2–5
Кози	0–1	3–12	–	1–5	29–38	45–64	2–4
Собаки	0–2	3–9	–	5–30	45–60	20–50	1–3

2.7. Гематологічний профіль

Використовуючи методи варіаційної статистики, професор Г.В.Домрачев та доцент С.П. Гоженко, незалежно один від одного, зробили гематологічні профілі для сільськогосподарських тварин різних видів. Гематологічний профіль являє собою стандартну картку, яка містить дані про гематологічні показники у межах фізіологічних коливань. Після дослідження крові результати відмічають у картці нанесенням крапок у графі відповідного показника.

Гематологічний профіль С.П. Гоженка

Картка профілю має графі для нанесення даних про кількість еритроцитів, гемоглобіну, лейкоцитів, ВГЕ та лейкограми. Межі фізіологічних коливань кожного показника виділені жирною лінією. Дані про лейкограму наведені у відсотках та абсолютних числах.

Результати дослідження крові наносяться на картку у вигляді крапок. Якщо крапка не знаходиться у межах окресленого прямокутника, то це свідчить про те, що цей показник виходить за фізіологічні коливання. Опускаючи перпендикуляри від нанесених крапок на нульову лінію, отримують діаграму, за якою аналізують показники крові.

Гематологічний профіль Г.В. Домрачева

Графік нанесений на стандартну картку. На жирній лінії М (Media) сітки розміщені середньоарифметичні дані для тварин кожного виду: кількість еритроцитів, лейкоцитів, вміст гемоглобіну, колірний показник, лейкограма. Вверх і вниз від середньої лінії М нанесені на однаковій відстані одна від одної три паралельні лінії, на яких показані цифри з різницею в 1 сигму (δ). Величина середнього квадратичного відхилення для кожного показника позначена внизу картки.

Після дослідження крові тварини на картку наносять крапки, які сполучають лінією. Крива лінія показує реакцію організму на патологічний процес і дає змогу робити висновок про стан здоров'я тварини.

Показники вмісту гемоглобіну, еритроцитів і лейкоцитів наносяться на сітку в абсолютних, а показники лейкограми – у відносних величинах, що є недоліком цього профілю, оскільки відносні величини не показують дійсного вмісту того чи іншого різновиду лейкоцитів у крові.

Після заповнення гематологічних профілів, проводиться їх аналіз. Збільшення чи зменшення певного показника крові записується у таблицю (табл. 8) спеціальними термінами: зменшення кількості еритроцитів – олігоцитемія (еритроцитопенія), збільшення кількості лімфоцитів – лімфоцитоз, відсутність базофілів – анбазофілія.

Таблиця 8 – Аналіз показників гематологічних профілів

Показник		Гематологічний профіль	
		за Г.В.Домрачевим	за С.П.Гоженком
Лейкоцити		лейкоцитоз	лейкоцитоз
Еритроцити		норма	норма
Гемоглобін		плейохромія	плейохромія
ВГЕ		–	нормохромія
Колірний показник		гіпохромія	–
Базофіли		анбазофілія	анбазофілія
Еозинофіли		норма	еозинофілія
Нейтрофіли	міелоцити	відсутні	відсутні
	юні	відсутні	відсутні
	паличкоядерні	нейтрофілія	нейтрофілія
	сегментоядерні	норма	нейтрофілія
Лімфоцити		норма	лімфоцитоз
Моноцити		норма	норма

3. ХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ

3.1. Визначення у крові вмісту гемоглобіну

Гемоглобін – це дихальний фермент крові, який міститься в еритроцитах і забезпечує транспорт кисню з легень до тканини та вуглекислоти з тканини до легень. Він входить до складу гемоглобінової буферної системи крові, яка бере участь у регуляції кислотно-основного балансу. Гемоглобін належить до групи хромопротеїнів, складається з простетичної групи – гема, який включає двовалентне залізо, і білкового компоненту – глобіну. Синтезується гемоглобін у червоному кістковому мозку, а руйнується через 110–130 днів життя еритроцитів у клітинах системи фагоцитарних мононуклеарів.

В еритроцитах циркулюючої крові гемоглобін знаходиться в стані безперервної зворотної реакції: приєднуючи молекулу кисню в легневих капілярах (оксигемоглобін), віддає її в тканинних капілярах (відновлений гемоглобін). Останній у тканинах зв'язує вуглекислоту (карбогемоглобін) і переносить її до легень.

Запропоновано кілька методів визначення гемоглобіну: колориметричний метод Салі; гемоглобінціанідний, фотометричний, газометричний (гемоглобін насичується киснем або вуглекислотою і за їх кількістю визначають вміст гемоглобіну); за вмістом заліза в гемоглобіні. Як *уніфікований* рекомендується *гемоглобінціанідний* метод за Л.М. Піменовою та Г.В. Дервізом.

Визначення кількості гемоглобіну в крові методом Салі.

Принцип методу: гемоглобін крові в розчині соляної кислоти перетворюється в солянокислий гематин, який порівнюється з гематином визначеної концентрації, взятої як стандарт.

Обладнання, посуд: гемометр Салі, очні піпетки, скляні палички, капіляр на 20 мкм.

Реактиви: 0,1 N-ний розчин соляної кислоти.

Методика визначення. У середню пробірку (до мітки 2) очною піпеткою наливають 0,1 N-ний розчин HCl. Капіляром набирають 20 мкл (0,02 мл) крові, кінчик його витирають ватою і кров обережно видувають на дно пробірки, а верхнім шаром кислоти промивають капіляр. Обережно перемішують і залишають на 5 хвилин (кров птиці 15 хв). Внаслідок гемолізу еритроцитів із гемоглобіну утворюється солянокислий гематин коричневого кольору. У пробірку додавають по краплях дистильовану воду, перемішуючи вміст пробірки скляною паличкою до тих пір, поки колір у ній не порівнюється з кольором стандартів. Кіль-

кiсть гемоглобiну у грамах на 100 мл визначають за нижнiм менiском рiдини. У мiжнароднiй системi (SI) кiлькiсть гемоглобiну визначають у грамах на 1 лiтр, тому одержаний результат необхідно помножити на 10.

Визначення вiстун гемоглобiну гемоглобiнцiанiдним методом

Принцип методу. Гемоглобiн при взаємодiї з цiанiстим калiєм (червона кров'яна сiль) окиснюється у метгемоглобiн, що утворює з ацетонцiангiдрином кольоровий гемоглобiнцiанiд, iнтенсивнiсть забарвлення якого пропорцiональна концентрацiї гемоглобiну.

Обладнання: фотоелектроколориметр.

Посуд: пiпетки мiрнi на 0,02 мл i 5 мл; пробiрки; колби мiрнi на 250 мл та 1л.

Реактиви: ацетонцiангiдрин (2 ампули по 0,5 мл – 0,47 г); сумiш реактивiв (2 флакони по 1,2 г), у т. ч. калiй цiанiстий – 0,2 г, натрiй двовуглекислий – 1,0 г; стандартний розчин гемоглобiнцiанiду (зберiгається у холодильнику при +4 °С).

Методика визначення. До 5 мл робочого розчину у пробiрку додавають 0,02 мл кровi i перемiшують. Через 10 хвилин знимають показники на фотоелектроколориметрi при довжинi хвилi 540 нм (зелений свiтлофiльтр) у кюветi шириною 10 мм проти контрольної проби (робочий розчин або дистильована вода). Записують показники оптичної щiльностi розчинiв, i за формулою чи калiбрувальним графiком визначають уміст гемоглобiну в кровi (г/100 мл або г/л; табл. 9).

Таблиця 9 – Вміст гемоглобiну у тварин

Вид тварин	г/л	Вид тварин	г/л
Велика рогата худоба	95–125	Качки	100–125
Вiвцi	90–135	Гуси	90–135
Кози	100–150	Индики	70–110
Конi	120–160	Кролi	105–125
Свинi	90–110	Норки	150–175
Собаки	140–230	Песцi	120–170
Коти	100–140	Соболi	130–160
Кури	80–120	Лисицi сiрiлясто-чорнi	120–160

Збiльшення вiстун гемоглобiну в кровi тварин (*плейохромiя, гiперхромемiя*) спостерiгається при згущеннi кровi (диарея, утворення ексудатiв, трансудатiв), серцево-легеневiй недостатностi i поєднується, як правило, зi збiльшенням кiлькостi еритроцитiв. **Зменшення** вiстун гемоглобiну (*олiгохромемiя*) спостерiгається при анемiях рiзного походження.

ня, причиною яких є дефіцит міді, кобальту, заліза, вітамінів В₂, В₁₂, В_с, С, кровотечі, посилений гемоліз еритроцитів, який буває при піроплазмідозах, лептоспірози, інфекційній анемії коней, пригнічення функції кісткового мозку різними токсинами.

3.2. Визначення індексів “червоної” крові

Визначення в крові вмісту гемоглобіну та кількості еритроцитів не завжди дає змогу виявити характер анемії і, відповідно, її причини. Для цього додатково необхідно визначити співвідношення між кількістю еритроцитів і гемоглобіном, тобто вирахувати так звані індекси “червоної” крові – колірний показник (КП) і середній уміст гемоглобіну (ВГЕ) в одному еритроциті.

Колірний показник свідчить про насиченість еритроцитів (Ер₂) гемоглобіном (Нв₂) у хворої тварини, порівняно з аналогічним середнім показником у здорових тварин даного виду. Визначають за формулою:

$$\text{КП} = \frac{\text{Нв}_2}{\text{Ер}_2} : \frac{\text{Нв}_1}{\text{Ер}_1} = \frac{\text{Нв}_2 \times \text{Ер}_1}{\text{Ер}_2 \times \text{Нв}_1},$$

де: Нв₂ і Ер₂ – кількість гемоглобіну і еритроцитів у дослідної тварини; Нв₁ Ер₁ – середній вміст гемоглобіну та еритроцитів у здорових тварин.

Колірний показник – величина відносна. Він становить: у великої рогатої худоби і свиней – 0,85–1,15, коней і собак – 0,8–1,2, овець – 0,5–0,7, кролів – 0,8–1,0, курей – 2,0–3,0.

Середній вміст гемоглобіну в одному еритроциті (ВГЕ) визначають діленням вмісту гемоглобіну в 1 л крові на кількість еритроцитів у тому ж об’ємі крові. ВГЕ вираховують в пікограмах (пг; 1 г = 10¹² пг). Наприклад, вміст гемоглобіну становить 100 г/л, кількість еритроцитів – 5 · 10⁶ в 1 мкл або 5 · 10¹² в 1л. Отже ВГЕ = 100 · 10¹² : 5 · 10¹² = 20 пг. Для перерахунку в одиниці SI кількість у пікограмах (пг) слід помножити на коефіцієнт 0,062 (фмоль).

ВГЕ дорівнює (пг): у великої рогатої худоби – 15–20; овець – 10–13; свиней – 16–19; коней – 17–20; собак – 20–40; кролів – 21–23; курей – 36–40.

Збільшення ВГЕ і колірного показника називають *гіперхромією*. Зустрічається вона при збільшенні об’єму еритроцитів внаслідок нестачі кобальту і вітаміну В₁₂, хронічній гемолітичній та мієлотоксичній анеміях. **Зменшення** ВГЕ і колірного показника (*гіпохромія*) спостерігається при нестачі в раціоні міді, заліза, протеїну (аліментарно-дефіцитна анемія), рідше – при зменшенні об’єму еритроцитів.

3.3. Визначення резервної лужності і кислотної ємності крові

Більшість біологічних процесів в організмі (за винятком процесів травлення в шлунку) урівноважені кислотними (H^+) і лужними (OH^-) іонами, тобто проходять у нейтральному або слаболужному середовищі. Тому величина рН плазми крові коливається у незначних межах: від 7,35 до 7,45.

Показник рН може змінюватися за рахунок кислот і лугів, які надходять в організм з кормом. Кислоти утворюються з білків і жирів внаслідок проміжного обміну речовин у клітинах і тканинах, при бродильних процесах в органах травлення, фізичному навантаженні. Луги надходять в організм переважно з рослинними кормами. Утворення кислот і лугів проходить також при розвитку різних патологічних процесів.

Незважаючи на вплив кислот і лугів, величина рН крові стабільна. Постійність рН забезпечується, передусім, буферними системами крові, а також активною діяльністю нирок, які виводять з організму непотрібні лужні і кислі продукти обміну речовин, легень, що виділяють залишки вуглекислоти, травної системи, шкіри і молочної залози.

Внаслідок стабільності рН, оцінку стану кислотно-лужної рівноваги проводять за результатами дослідження буферних систем, які є в крові: гідрокарбонатної, фосфатної, білкової і гемоглобін-оксигемоглобінової. Останні дві найбільш ємні.

Запас усіх буферних систем крові називається кислотною ємністю, а запас бікарбонатів крові, визначений за загальною кількістю вуглекислоти, яка міститься в плазмі, – лужним резервом.

Стан кислотно-лужної рівноваги найбільш повно можна визначити за допомогою мікрометоду апаратами типу “Аструп” за наступними показниками: рН, парціальний тиск вуглекислоти, бікарбонат крові, буферні основи та їх зрушення.

У практиці лабораторій ветеринарної медицини визначають резервну лужність плазми крові дифузійним методом за допомогою здвоєних колб (за І.П.Кондрахіним), кислотної ємності крові – методами Беляєва – Большакова – Коромислова.

Титрометричний метод визначення кислотної ємності сироватки або плазми крові (за А.О. Кудрявцевою і В.Ф. Коромисловим)

Принцип методу. Лужні речовини сироватки крові зв’язуються з соляною кислотою, а вільна соляна кислота титрується лугом з індикатором Таширо. В точці еквівалентності колір переходить із брудно-

буро-фіолетового в яскраво-зелений, який зберігається протягом кількох хвилин. Інколи випадає осад білка, але він не заважає титруванню.

Обладнання: хімічні або бактеріологічні пробірки, хімічні склянки на 50 чи 100 мл або колби на 50 мл, бюретка на 50 мл, мікробюретка, піпетки на 1 або 10 мл, крапельниця, мірна колба на 1 л, лійка та пробірки.

Реактиви: 0,01 N-ний розчин соляної кислоти; 0,01 N-ний розчин натрію гідроокису; реактив Таширо (обережно змішують 50 мл 0,03 %-ного спиртового розчину метилового червоного і 7,5 мл 0,19 %-ного водного розчину метиленового синього). Всі реактиви готують на прокип'яченій дистильованій воді.

Методика визначення. У склянку або колбу наливають 10 мл 0,01 N-го розчину соляної кислоти, 0,2 мл сироватки крові і 1–3 краплі реактиву Таширо, обережно перемішують і титрують 0,01 N-ним розчином натрію гідроокису до появи зеленого забарвлення. Одночасно визначають коефіцієнт поправки – відтитровують при таких самих умовах 10 мл 0,01 N-го розчину HCl 0,01 N-ним розчином NaOH.

Кислотну ємність (X) вираховують за формулою:

$$X = \frac{(A - B \times K) \times 0,4 \times 100}{0,2};$$

$$X = (A - B \times K) \times 200,$$

де: X – кислотна ємність, мг/100 мл; A – кількість 0,01 N-ного розчину HCl, взятого у реакцію, мл; B – кількість 0,01 N-ного розчину натрію гідроокису, витраченого на титрування, мл; $0,4$ – кількість натрію гідроокису, який міститься в 1 мл 0,01 N-ному розчині, г; $0,2$ – кількість сироватки крові, взятої для дослідження, мл; 100 – коефіцієнт для перерахунку в мг/100 мл.

Коефіцієнт поправки (K) вираховують за наступною формулою:

$$K = \frac{A}{C},$$

де: A – кількість 0,01 N-ного розчину соляної кислоти, мл; C – кількість 0,01 N-ного розчину натрію гідроокису, витрачена на титрування, мл.

При правильному зберіганні в закритих пробірках у вільному від парів лугів і кислот місці (краще в холодильнику) кислотна ємність сироватки крові залишається незмінною протягом 2–3-х днів. Для більш тривалого зберігання сироватку крові консервують: у пробірку наливають 1 мл 0,1 N-го розчину соляної кислоти і вносять 0,2 мл сироватки, закривають пробкою і ставлять у холодильник. В день дослідження додають 9 мл дистильованої води, вільної від аміаку і вуглекислого газу, і титрують. Встановлено, що при нормальних показниках крові

(кількість каротину, кальцію, фосфору, загального білка, глюкози) у зимово-стійловий період кислотна ємність сироватки крові великої рогатої худоби становить 270–460, а в літній – 300–480 мг/100мл. Для перерахунку в одиниці, які допускаються ВООЗ нарівні з одиницями SI, одержаний результат ділять на 4 і виражають у ммоль/л.

**Визначення резервної лужності крові
дифузійним методом за допомогою здвоєних колб
(за І.П.Кондрахіним)**

Принцип методу. В одній частині колби плазма крові підлягає дії сірчаної кислоти, внаслідок чого вивільнюється вуглекислий газ, який знаходиться у складі бікарбонатів. Виділений вуглекислий газ поглинається розчином натрію гідроксиду, який знаходиться у другій частині колби. Надлишок NaOH, який не вступив у реакцію з вуглекислим газом, та половину натрію вуглекислого (Na_2CO_3), утвореного внаслідок поглинання CO_2 , титрують розчином сірчаної кислоти. За кількістю зв'язаного початкового натрію гідроксиду визначають кількість виділеного з плазми вуглекислого газу, яка дорівнює вмісту бікарбонатів.

Реактиви. 1) 0,1 N-ний (0,05 моль/л) розчин сірчаної кислоти (готують з фіксааналу); 2) 0,02 N-ний (0,01 моль/л; точно!) розчин сірчаної кислоти (готують з 0,1 N-ного розчину сірчаної кислоти); 3) 0,1 N-ний розчин натрію гідроксиду; 4) 0,02 N-ний (0,02 моль/л) розчин натрію гідроксиду [готують з 0,1 N-ного (0,1 моль/л) розчину натрію гідроксиду; титр цього розчину перевіряють перед дослідженням і доводять до потрібної величини]; 5) 5 %-ний розчин сірчаної кислоти; 6) 1 %-ний спиртовий розчин фенолфталеїну.

Обладнання: здвоєні колби з гумовими пробками (не менше 30 шт.); мікробюретки на 2 і 5 мл; центрифужні пробірки із товстого скла.

Методика визначення. У чисті, сухі центрифужні пробірки вносять 0,5–1 мл вазелінового масла, 1–2 краплі 1 %-ного розчину гепарину. Кров беруть з яремної вени в підготовлену пробірку, закривають пробкою, обережно перемішують. В лабораторії її центрифугують при 3000 об/хв протягом 20 хв. Плазму крові зберігають в холодильнику при температурі 4 °С.

За кількістю проб крові з врахуванням паралельних досліджень підбирають здвоєні колби і не менше трьох здвоєних колб залишають для контролю. Точність результатів усієї серії досліджень залежить від точності титрування розчину натрію гідроксиду в контрольних колбах. Усі колби закривають гумовими пробками.

Дослідження проводять серійно. В одну з кожної пари здвоєних колб, по чергово відкриваючи, вносять за допомогою бюретки або піпетки (не видуваючи) по 2 мл 0,02 N-ного розчину натрію гідроксиду і щільно закривають пробкою. У паралельну колбу, крім контрольних (знову по чергово відкриваючи і закриваючи), вносять із піпетки (не видуваючи) 0,5 мл плазми крові, яка знаходиться під вазеліновим маслом. Після цього в колби з плазмою (контрольні без плазми), також по чергово, вносять із піпетки (не видуваючи) по 1 мл 5 %-ного розчину сірчаної кислоти і швидко щільно закривають пробкою. Перевіряють, чи добре закриті колби, обережно руховими рухами перемішують плазму крові з кислотою і залишають на 4 год (можна і більше, звичайно на ніч). Перемішування плазми крові з кислотою проводять не менше 3-х разів. Через 4 год (або вранці наступного дня) починають титрування. Для цього по чергово відкривають колбу, де знаходиться розчин натрію гідроксиду, вносять туди 1–2 краплі розчину фенолфталеїну і титрують з мікробюретки на 2 мл 0,02 N-ним розчином сірчаної кислоти до повного знебарвлення розчину. Титрування дослідних та контрольних проб виконують з однаковою швидкістю.

За різницею результатів титрування в контрольних та дослідних зразках знаходять кількість мл 0,02 N-ного розчину натрію гідроксиду, зв'язаного з вуглекислим газом, витісненим із бікарбонатів крові. Розрахунок проводять за формулою:

$$X \text{ об\%CO}_2 = (V_k - V_n) \times 89,6,$$

де: V_k – кількість 0,02 N-ного розчину сірчаної кислоти в мл, яка пішла на титрування вмісту контрольної проби; V_n – кількість 0,02 N-ного розчину сірчаної кислоти в мл, яка пішла на титрування дослідної проби; 89,6 – коефіцієнт перерахунку 0,02 N-ного розчину натрію гідроксиду на CO_2 .

Клінічне значення. Зниження резервної лужності крові свідчить про зрушення кислотно-основної рівноваги у бік ацидозу, а підвищення – алкалозу. Метаболічний ацидоз зустрічається при одноманітному висококонцентратному або силосно-жомовому типі годівлі, кетозі, вторинній остеодистрофії, ацидозі рубця, цукровому діабеті, розладах травлення, особливо при діареї у молодняку, нефриті, нефрозі, септичних процесах. Респіраторний ацидоз виникає внаслідок уповільнення процесу виділення вугільної кислоти легень при розладах серцевої діяльності, емфіземі легень, при знаходженні тварин у середовищі з високою концентрацією у повітрі вуглекислоти. Метаболічний алкалоз у тварин буває при алкалозі рубця, введенні в організм великих доз кухонної солі, а респіраторний – при гіпервентиляції легень, виведенні з організму великої кількості вуглекислого газу.

3.4. Визначення загального білка і білкових фракцій

Вміст загального білка визначають за допомогою рефрактометра або біуретовим методом, а окремі фракції білка – нефелометричним методом та електрофорезом. Залежно від методу можна визначити від 5 до 100 фракцій білка. При визначенні загального білка у сироватці крові рефрактометром напочатку слід перевірити нульову точку приладу, для чого 1–2 краплі дистильованої води наносять на поліровану поверхню вимірювальної призми. Межа світла й тіні має знаходитись на візирній лінії і проходити через позначку 1,333 шкали приладу. Потім призму витирають і на неї наносять 1–2 краплі сироватки крові. Межа світла й тіні зміщується. Підводять візирні лінії на цю межу і згідно цифр шкали рефрактометра за таблицю визначають кількість загального білка (табл. 10).

Таблиця 10 – Вміст загального білка і білкових фракцій у сироватці крові

Вид тварин	Загальний білок, г/л	Білкові фракції, у процентах:			
		альбуміни	глобуліни		
			альфа-	бета-	гамма-
Велика рогата худоба	70–86	38–50	12–20	10–16	25–35
Вівці	65–75	40–50	13–20	7–12	20–35
Свині	70–85	35–45	14–20	16–20	17–25
Коні	60–80	35–50	14–18	15–26	15–30
Собаки	62–80	45–58	10–16	20–25	10–14
Кури	43–60	31–35	17–19	11–13	30–35

Зменшення вмісту загального білка в сироватці крові – *гіпопротеїнемія* – розвивається при недостатньому надходженні білків в організм, незбалансованості раціону за окремими незамінними амінокислотами, при зниженні секреторної функції шлунка, кишечника, підшлункової залози, порушенні синтезу білка в печінці при її хворобах (гепатит, гепатоз, цироз), при втраті білків із сечею внаслідок захворювань нирок (нефроз, гломерулонефрит), кровотечах, утворенні великої кількості ексудатів і трансудатів, злоякісних пухлинах.

Збільшення вмісту загального білка – *гіперпротеїнемія* буває рідше. Вона може бути відносною (спостерігається при згущенні крові внаслідок втрати рідини при зневодненні) і абсолютною, яка буває при надмірному згодовуванні кормів, багатих на протеїн, гепатиті, хронічних інфекціях, а також внаслідок появи патологічних білків – парапротеїнів.

У молодняку вміст загального білка нижчий, ніж у дорослих тварин: у новонароджених телят – 38–50 г/л, поросят – 45–50, ягнят – 45–54, лоша́т – 46–64 г/л, телят до 10-денного віку – 60–70 г/л.

Крім загального білка, для діагностики різних патологічних процесів важливе значення має визначення білкових фракцій – альбумінів та глобулінів. Порушення оптимального співвідношення між ними називається *диспротеїнемією*. Найбільш вираженою вона буває при ураженні органів, де синтезуються білки.

Особливо часто зменшується кількість альбумінів (*гіпоальбумінемія*), які виконують важливі функції підтримання колоїдно-осмотичного тиску крові, регуляції водного обміну, зв'язування та транспортування вуглеводів, ліпідів, гормонів, вітамінів, пігментів, мінеральних речовин.

Гіпоальбумінемія розвивається внаслідок білкового голодування і є типовою ознакою хвороб печінки (гепатит, гепатоз, абсцеси, цироз і пухлини), оскільки в ній синтезуються всі альбуміни, а також при різних внутрішніх, інфекційних та паразитарних хворобах, коли настає вторинне ураження печінки (пневмонії, кетоз, перикардит, міокардоз, лейкоз, туберкульоз, сальмонельоз, колібактеріоз та ін.). Найбільш вираженою гіпоальбумінемія буває при хронічних захворюваннях нирок (нефроз), які супроводжуються втратою білка з сечею (*протеїнурія*).

Збільшення кількості альбумінів буває рідко, в основному при дегідратації. При змінах кількості альбумінів порушується їх співвідношення з глобулінами (змінюється альбуміно-глобуліновий коефіцієнт, який у здорових тварин коливається у межах від 0,8 до 1). Кількість альфа-глобулінів збільшується при гострих запальних процесах (ревматизм, пневмонія, нефрит, артрит) та при загостренні хронічних захворювань (туберкульоз, гепатит). Зменшення кількості альфа-глобулінів спостерігається рідко, частіше всього при тяжких дистрофічних процесах у печінці.

Збільшення кількості бета-глобулінів спостерігається при хронічних інфекціях, хворобах нирок (нефроз, нефрит), цирозі печінки. До складу фракцій бета-глобулінів входить фібриноген, збільшення вмісту якого буває при крупозній пневмонії, лейкозі, септичному ендокардиті, а зменшення – при хворобах печінки.

Основну масу антитіл містять фракції гамма-глобулінів (імуноглобулінів), які забезпечують гуморальний захист організму, тому їх кількість у сироватці крові характеризує морфологічну зрілість і функціональну повноцінність імунореактивної системи. Низький рівень імуноглобулінів (*гіпогаммаглобулінемія*) буває у новонароджених, особливо у перший день життя, оскільки вони не проникають через плаценту, а надходять лише з молозивом (фізіологічний імунодефіцит). Тому в підтриманні їх рівня має велике значення якість молози-

ва, своєчасність його випоювання, стан слизової оболонки тонкого кишечника. У новонароджених синтез власних імуноглобулінів починається з 5–7-го дня життя і оптимального рівня сягає лише в 6-місячному віці, тому молодняк сприйнятливий до багатьох хвороб (сальмонельозу, стрептококозу, пастерельозу). Зниження вмісту імуноглобулінів спостерігається також при захворюваннях, які супроводжуються ураженням імунної системи (міелома, лімфолейкоз, хвороба Гамборо), втратою імуноглобулінів при нефрозах, ентеритах, хронічних кровотечах, внаслідок пригнічення функції імунної системи (токсини, імунодепресанти та ін.).

Гіпергаммаглобулінемія спостерігається при всіх імунологічних реакціях, які супроводжуються посиленням синтезом глобулінів (вакцинації), і зумовлена підвищенням вмісту імуноглобулінів майже всіх класів та неспецифічних антитіл, при багатьох бактеріальних інфекціях (стрепто-, стафіло- і пневмококозах), хронічному гепатиті, цирозі печінки, деяких паразитарних хворобах.

3.5. Визначення загальної кількості імуноглобулінів

Білки, що мають молекулярну будову, типову для антитіл, незалежно від їх біохімічної та фізико-хімічної структури, називаються *імуноглобулінами* (Ig). Вони є носіями основної маси антитіл, тобто речовин, які виконують функцію захисту тварин від вірусів, бактерій, паразитів і генетично чужорідних елементів (білки, еритроцити, тканини). Імуноглобуліни синтезуються плазматичними клітинами, які трансформуються з В-лімфоцитів.

Оскільки у новонароджених тварин у перші дні життя показники неспецифічної резистентності недостатньо виражені, захист організму від несприятливих факторів навколишнього середовища забезпечується за рахунок Ig. У кролів, лабораторних гризунів, собак і котів імуноглобуліни від матері передаються потомству через плаценту та молозиво, у приматів – через плаценту; у телят, поросят, ягнят і лоша́т – через молозиво, тому їх у сироватці крові до згодовування молозива дуже мало (до 4 г/л). Захист новонародженого приплоду сільськогосподарських тварин від несприятливих факторів зовнішнього середовища в перші дні життя забезпечується за рахунок імуноглобулінів, що надходять в організм з молозивом (пасивний або колостральний імунітет). Тривалість пасивного імунітету у тварин різних видів неоднакова й коливається від кількох днів до кількох тижнів.

Вміст Ig у молозиві залежить від віку, годівлі та утримання самок. У молозиві самок старшого віку міститься значно більше імуноглобулінів, ніж у молодих, що позначається на стійкості новонароджених проти захворювань. Низький рівень Ig спостерігається у новонароджених у перший день життя, оскільки вони не проходять через плаценту, а надходять з молозивом (фізіологічний імунодефіцит), тому у підтриманні їхнього рівня має значення кількість Ig у молозиві, своєчасне його випоювання, стан слизової оболонки тонкого кишечника та інші фактори.

У сироватці крові дводенних телят повинно бути не менше 18 г/л імуноглобулінів (оптимальна величина – більше 20 г/л). Імуноглобуліни діляться на п'ять класів: Ig A, Ig M, Ig G, Ig E, Ig D. Імуноглобуліни молозива всмоктуються із кишечника в лімфатичні судини у незміненому вигляді протягом різного часу: Ig G – 27, Ig M – 16, Ig A – 22 год після народження, у більшості телят абсорбція Ig закінчується через 12–20 год, у деяких – через 36 год. Тому раннє (не пізніше однієї години після народження) згодовування молозива новонародженим є запорукою стабільного колострального імунітету.

Визначення загальної кількості імуноглобулінів у сироватці крові

Принцип методу. При взаємодії сироватки крові, яка містить імуноглобуліни, з розчином натрію сульфату (цинку сульфату), змінюється структура білкових молекул і розчин мутніє, його інтенсивність пропорційна концентрації Ig.

Методика визначення. У дві пробірки вносять по 3,8 мл 18 %-ного розчину натрію сульфату і додають по 0,1 мл дослідної сироватки крові. Вміст пробірок фотометрують на КФК-2 або КФК-3 при довжині хвилі 400 ± 5 нм у кюветі з робочою товщиною 5 мм. Контролем є 18 %-ний розчин натрію сульфату.

Із отриманих результатів з двох пробірок визначають середній показник. Якщо оптична щільність розчину вище за 1,3–1,5, то сироватку крові необхідно розвести ізотонічним розчином натрію хлориду у 2 рази і повторити вимірювання.

Для побудови калібрувальної кривої використовують стандартну сироватку тварин або людини, у якій заздалегідь відома сумарна кількість імуноглобулінів. Можна також використовувати таблицю М.О.Костини (1983; табл. 11).

Таблиця 11 – **Визначення загальної кількості імуноглобулінів у сироватці крові та молозиві**

Оптична щільність	Вміст ІG, мг/мл	Оптична щільність	Вміст ІG, мг/мл	Оптична щільність	Вміст ІG, мг/мл
0,1	2,28	0,185	4,61	0,80	17,8
0,11	2,60	0,19	4,72	0,85	19,0
0,12	2,92	0,195	4,83	0,90	20,2
0,125	3,03	0,20	4,94	0,95	21,2
0,13	3,14	0,25	5,80	1,0	22,3
0,135	3,37	0,30	6,80	1,05	23,4
0,14	3,60	0,35	8,00	1,1	24,6
0,145	3,70	0,40	9,00	1,15	25,8
0,15	3,80	0,45	10,00	1,2	26,8
0,155	3,93	0,5	11,4	1,25	28,0
0,16	4,06	0,55	12,4	1,3	29,0
0,165	4,17	0,6	13,6	1,35	30,1
0,17	4,28	0,65	14,6	1,4	31,2
0,175	4,39	0,70	15,8	1,45	32,3
0,180	4,50	0,75	16,8	1,5	33,4

Визначення загальної кількості імуноглобулінів у молозиві

Молозиво знежирюють центрифугуванням при 3000 об/хв протягом 30 хв. Пробірку з молозивом ставлять у морозильну камеру холодильника на 20–30 хв, після чого молозивний жир видаляють з пробірки дратяною петлею.

Знежирене молозиво розводять у 2–4 рази дистильованою водою і додають до нього по краплях 10 %-ний розчин оцтової кислоти до повного згортання казеїну. Отриману сироватку фільтрують через паперовий фільтр або центрифугують при 3000 об/хв протягом 5–10 хв для осадження казеїну і використовують для дослідження за аналогічною методикою. Кінцеві результати множать на ступінь розведення молозива. Молозиво високої якості містить більше 60 г/л Іg в 1 л.

3.6. Колоїдно-осадові проби

Для оцінки функції печінки та інших патологічних станів організму широко використовуються колоїдно-осадові (коагуляційні) проби, за допомогою яких діагностують зміни у складі білків сироватки крові (диспротеїнемію).

В основі осадових проб лежить взаємодія глобулінів із речовинами-осадниками. Осадові проби неспецифічні, однак вони допомагають встановити ступінь порушення співвідношення між глобулінами та альбумінами сироватки крові.

Сулемова проба (за Грінстедом)

Принцип методу. Сулема в присутності дрібнодисперсних колоїдів (білків) утворює колоїдний розчин солей ртуті. Порушення дисперсності білкових фракцій сироватки крові призводить до осадження грубодисперсних білків.

Обладнання: мікробюретки, стаканчики (пробірки).

Реактиви: 0,1 %-ний розчин сулеми (отримують із кристалічної сулеми), 0,85%-ний розчин натрію хлориду.

Методика визначення. У пробірку вносять 0,5 мл свіжої сироватки крові і 1 мл 0,85%-ного розчину натрію хлориду, перемішують. За допомогою мікробюретки додають 0,1 %-ний розчин сулеми – на початку в помірній кількості до появи первинного помутніння, а в подальшому – по краплях (з проміжком 20 с) до стійкого помутніння. Результат реакції оцінюють за кількістю витраченого розчину (у мл).

В нормі у здорових корів і нетелей на титрування сироватки крові витрачається 1,6–2,6 мл 0,1 %-ного розчину сулеми. Зниження показника до 1,5 мл і менше спостерігається при гепатиті, гепатодистрофії та цирозі печінки. Чим більше виражені дистрофічні зміни печінки, тим менше витрачається на титрування розчину сулеми. Недоліком є те, що сулема – отруйна речовина (зберігається за списком А).

Проба з розчином міді сульфату

(за Постніковим В.С.)

Осадова проба з розчином міді сульфату показова не тільки в якісному відношенні, але й у кількісному (за кількістю витраченого розчину).

Обладнання: мікробюретки, пробірки.

Реактиви: 0,1 %-ний розчин міді сульфату на дистильованій воді, робочий розчин (у мірній колбі з дистильованою водою розчиняють 0,5 г натрію сульфату, додають 7 мл 1 %-ного розчину міді сульфату, загальний об'єм доводять дистильованою водою до 100 мл).

Хід визначення. У пробірку наливають 1 мл свіжої сироватки крові. Краплями із бюретки додають робочий розчин міді сульфату до появи помутніння, яке не зникає при перемішуванні. Для стійкого помутніння необхідно від 2,1 до 2,3 мл робочого розчину: проба вважається негативною. У тварин з порушенням білоксинтезувальної функції печінки результати оцінюються за наступним критерієм: якщо стійке помутніння сироватки крові настає при додаванні від 1,86 до 2,08 мл реактиву – проба слабопозитивна (+), від 1,76 до 1,85 мл – позитивна (++) , 1,76 мл реактиву і менше – різко позитивна (+++).

Формолова проба

Суть формолової проби полягає у желатинуванні білків сироватки крові при підвищенні вмісту глобулінів, особливо гамма-глобулінів, та фібриногену після взаємодії з формаліном. Проба досить проста для виконання.

Обладнання: мікробюретки, пробірки, піпетки.

Реактиви: 40 %-ний розчин формальдегіду.

Хід визначення. У пробірку наливають 1 мл свіжої сироватки крові і додають 2–3 краплі формальдегіду. Пробу перемішують, пробірки закривають корком і залишають на 24 год при кімнатній температурі. Проба вважається негативною, якщо через цей час згусток не утворюється.

Якщо утворився незначний згусток – проба сумнівна (+), щільний згусток – проба слабо позитивна (++), опалесцентне забарвлення та щільний згусток – реакція позитивна (+++), при утворенні інтенсивного молочно-білого забарвлення та щільного згустку – реакція різко позитивна (++++).

Позитивні результати колоїдно-осадових реакцій спостерігаються при збільшенні кількості бета- і гамма-глобулінів. Для підвищення вірогідності у постановці діагнозу використовують одночасно кілька осадових проб.

3.7. Визначення білірубіну в сироватці крові

Білірубін є одним із кінцевих продуктів пігментного обміну. Через ряд проміжних стадій з гему зруйнованих еритроцитів утворюється непрямий білірубін (вільний, не проведений через печінку), який є нормальною складовою частиною сироватки крові. Він нерозчинний у воді і тому не виводиться з сечею. У клітинах печінки непрямий білірубін з'єднується з глюкуроновою кислотою, утворюється прямий (кон'югований, проведений через печінку, холєбілірубін). Сума вільного та зв'язаного складає загальний білірубін.

Вміст білірубіну і його фракцій у сироватці крові визначають за методом Ієндрашика, Клеггорна і Грофа у модифікації В.І.Левченка і В.В.Влізла (1988) та за методом Бокальчука.

Визначення білірубіну за методом Бокальчука

Принцип методу. Проведений через печінку білірубін (кон'югований) реагує безпосередньо з діазореактивом (тому його називають прямим), а непродований – лише після дії прискорювачів, до яких належать кофеїновий або інші реактиви.

Обладнання: піпетки на 1 мл, 2 мл, пробірки.

Реактиви: сульфанілова кислота, концентрована соляна кислота, натрію нітрат, спирт метиловий або етиловий, ізотонічний розчин натрію хлориду.

Методика визначення: у 5–6 пробірок вносять по 0,5 мл ізотонічного розчину натрію хлориду. У першу пробірку додають 0,5 мл сироватки крові, перемішують і 0,5 мл суміші переносять в наступну пробірку, знову перемішують і переносять далі. З останньої пробірки 0,5 мл суміші виливають. Таким чином одержують розведення сироватки крові у 2, 4, 8, 16 і 32 рази.

У кожен пробірку додають по 0,25 мл діазосуміші. При наявності кон'югованого (прямого) білірубину з'являється рожевий або бузковий колір. Відмічають останню пробірку, в якій спостерігається забарвлення рідини. Через 15 хв у кожен пробірку додають по 0,5 мл метилового або етилового спирту (для того, щоб в реакцію вступив непрямий білірубін). Кількість білірубину визначають за формулою:

$$X = A \times 0,0016 \times 100,$$

де: X – кількість білірубину, мг в 100 мл сироватки крові; A – розведення сироватки крові в останній пробірці, де спостерігалось слабо-рожеве чи слабо-фіолетове забарвлення; $0,0016$ – коефіцієнт (якщо сироватка крові з діазореактивом утворює слабо-рожеве чи слабо-фіолетове забарвлення, то 1 мл її містить 0,0016 мг білірубину); 100 – перерахунок на 100 мл сироватки крові.

***Визначення білірубину у сироватці крові
за модифікованим методом Ієндрашика,
Клеггорна і Графа***

У чотири пробірки наливають по 0,5 мл розведеної у 2 рази сироватки крові. Перша пробірка є контролем для визначення загального білірубину. У неї наливають 0,25 мл ізотонічного розчину натрію хлориду і 1,75 мл кофеїнового реактиву.

У другій пробірці визначають вміст загального білірубину: наливають 0,25 мл діазореактиву і 1,75 мл кофеїнового розчину. Третя пробірка – контроль для прямого (кон'югованого) білірубину. У неї вносять 2 мл ізотонічного розчину.

У четверту пробірку вносять 1,75 мл ізотонічного розчину та 0,25 мл діазосуміші і визначають кон'югований білірубін (табл. 12).

Дослідження проводять через 5 хв після додавання діазосуміші при визначенні кон'югованого білірубину та через 20 хв – загального при довжині хвилі 560 нм, у кюветах з товщиною робочого шару 5 мм проти дистильованої води.

Таблиця 12 – Схема постановки реакції для визначення білірубіну

Реактиви, мл	Контроль для загального білірубіну	Загальний білірубін	Контроль для кон'югованого білірубіну	Кон'югований білірубін
Розведена удвічі сироватка	0,5	0,5	0,5	0,5
Кофеїновий реактив	1,75	1,75	–	–
0,85 % -ний розчин NaCl	0,25	–	2,0	1,75
Діазосуміш	–	0,25	–	0,25

Від показників оптичної щільності проб з визначення загального та кон'югованого білірубіну віднімають показники оптичної щільності відповідних контролів і за калібрувальним графіком визначають вміст загального та кон'югованого білірубіну у мг на 100 мл сироватки крові, або в мкмоль/л, а за різницею між ними – вміст вільного (некон'югованого) білірубіну (табл. 13).

Таблиця 13 – Кількість білірубіну в сироватці крові тварин

Вид тварин	Загальний білірубін		Кон'югований білірубін	
	мг/100 мл	мкмоль/л	мг/100 мл	мкмоль/л
Корови	0,1–0,6	1,71–10,3	–	–
Вівці	0–0,4	0–6,84	0–0,2	0–3,33
Коні	0,5–1,5	8,5–25,6	0,004–0,6	0,07–10,3
Свині	0–0,4	0–6,84	–	–
Кури	0,1–0,35	1,71–6,0	–	–
Собаки	0,12–0,14	0,5–5,4	–	–

Збільшення кількості білірубіну в сироватці крові – *білірубінемія*, спостерігається при захворюваннях, які супроводжуються гемолізом еритроцитів за рахунок збільшення у крові непрямого (вільного або непроведеного через печінку) білірубіну (піроплазмідози, лептоспіроз, отруєння речовинами, що спричинюють гемоліз еритроцитів). Збільшення вмісту кон'югованого білірубіну спостерігається у тварин при механічній жовтяниці, а одночасне підвищення вмісту обох фракцій пігменту – при паренхіматозній жовтяниці, зумовленій запаленням печінки або її дистрофією.

3.8. Визначення загального кальцію у сироватці крові

Комплексонометричний метод (за Луцьким Д.Я.)

Принцип методу полягає у реакції органічних сполук (трилон Б) з металом (Са). Комплекс металу з трилоном Б більш тісний, ніж металу з

індикатором. Тому при додаванні трилону Б до розчину, що має метал та індикатор у зв'язаному стані, відбувається поступовий перехід іонів металу до трилону Б. Закінчення цієї реакції визначають за зміною кольору розчину. Відомо кілька індикаторів. У практиці лабораторій ветеринарної медицини частіше використовують мурексид.

Обладнання: циліндр на 25 мл, склянки, піпетки на 1 мл, очні піпетки.

Реактиви: дистильована вода, 0,1 N-ний розчин трилону Б (4,652 г трилону Б розчиняють у 250 мл води); 0,01 N-ний розчин трилону Б; 10 %-ний розчин натрію гідроокису; розчин мурексиду (30 мл води + мурексид на кінчику скальпеля, отримують буряково-червоний колір).

Методика визначення. У склянку наливають 25 мл дистильованої води, додають 1 мл сироватки крові, 1 мл натрію гідроокису, 1–2 краплі мурексиду і титрують 0,01 N-ним розчином трилону Б до зміни рожевого забарвлення на бузкове.

Вміст кальцію у сироватці крові визначають за формулою:

$$X = a \times 20,$$

де: X – кількість кальцію, мг у 100 мл сироватки крові; a – кількість трилону Б, яка пішла на титрування; 20 – коефіцієнт (стабільна величина).

Визначення загального кальцію в реакції з кальційарсеназо (III)

Принцип методу. Кальцій утворює з барвником комплекс фіолетового кольору, який визначають фотометрично при довжині хвилі 590–650 нм.

Склад набору: реагент для визначення кальцію (концентрований), еталон кальцію (2,5 ммоль/л).

Приготування робочого реагенту для визначення кальцію: змішують 1 об'єм концентрованого розчину реагенту для визначення кальцію з 19-ма об'ємами дистильованої води. Розчин стабільний при зберіганні в холодильнику протягом 10-ти діб.

Калібрувальний розчин: змішують 1 мл еталону кальцію з 9 мл дистильованої води. Отриманий розчин містить 2,5 ммоль/л кальцію (10 мг в 100 мл). Розчин стабільний при зберіганні в холодильнику кілька тижнів.

Методика визначення. До 4 мл робочого розчину реагенту для визначення кальцію додають 0,05 мл дослідної сироватки крові (або іншого субстрату). Суміш перемішують. Одночасно ставлять також калібрувальну пробу (до 4 мл робочого розчину реагенту додають 0,05 мл калібрувального розчину). Витримують 5–10 хв при кімнатній температурі і колориметрують при довжині хвилі 590–650 нм на спектрофотометрі або фотоелектроколориметрі проти контролю в кюветі товщиною 1 см.

Контроль: до 4 мл реагенту додають 0,05 мл дистильованої води.

Вміст кальцію (табл. 14) вираховують за формулою:

$$Ca_{\text{ммоль/л}} = \frac{E_{\text{досл}} \times 2,5 \text{ ммоль/л}}{E_{\text{ст}}},$$

де: $E_{\text{досл}}$ і $E_{\text{ст}}$ – поглинання, відповідно, дослідної проби і калібрувального розчину з концентрацією 2,5 ммоль/л.

Таблиця 14 – Вміст загального кальцію в сироватці крові здорових тварин

Вид тварин	Загальний кальцій	
	мг/100 мл	ммоль/л
Велика рогата худоба (дорослі тварини)	9,5–12,5	2,38–3,13
Телята	10–12,5	2,5–3,13
Вівці	9,5–13,5	2,38–3,38
Коні	10–14	2,5–3,5
Свині (дорослі)	10–12	2,5–3,0
Поросята відлучені	10–13	2,5–3,25

Зниження вмісту кальцію в сироватці крові (*гіпокальціємія*) діагностується при тривалому недостатньому надходженні його з кормом, порушенні засвоєння внаслідок дефіциту вітаміну D, при остеодистрофії, рахіті, гіпофункції щитоподібної залози, післяродовій гіпокальціємії, хворобах печінки та нирок внаслідок порушення синтезу біологічно активних метаболітів холекальциферолу.

Збільшення вмісту кальцію в сироватці крові (*гіперкальціємія*) діагностується при передозуванні препаратів вітаміну D, згодовуванні тваринам рослин, що містять дигідроксिवітамін D₃, гіперфункції прищитоподібних залоз.

3.9. Визначення неорганічного фосфору в сироватці крові

У крові фосфор міститься у вигляді органічних та неорганічних сполук. Органічний фосфор зв'язаний з білками та ліпідами. У клінічній практиці діагностичне значення має визначення неорганічного фосфору, яке здійснюють реакціями з ванадат-молібденовим реактивом (за Пулсом у модифікації Коромислова В.Ф. і Кудрявцевої Л.А.) та з аскорбіновою кислотою (у модифікації Івановського С.А.). При зберіганні сироватки крові органічний фосфор розкладається зі збільшенням неорганічного. Щоб уникнути помилки при дослідженні, необхідно проводити аналіз лише свіжої сироватки крові або одержувати її безбілковий фільтрат після додавання трихлороцтової кислоти.

Визначення неорганічного фосфору за реакцією з аскорбіною кислотою

Обладнання та посуд: центрифуга, фотоелектроколориметр (ФЕК-56М, КФК-3), скляні піпетки на 1 мл, 2 і 5 мл, центрифужні пробірки.

Реактиви: 1 %-ний розчин аскорбінової кислоти, який приготовлений перед дослідженням на 0,1 N-ному розчині сірчаної кислоти; 2,5 %-ний розчин амонію молібденовокислого (2,5 г реактиву розчиняють при нагріванні в 50–60 мл дистильованої води, після охолодження до розчину додають 7,5 мл концентрованої сірчаної кислоти і дистильовану воду до мітки 100 мл; розчин зберігається у склянці із темного скла близько 2-х місяців); 10 %-ний розчин трихлороцтової кислоти (ТХО); 0,1 N-ний розчин соляної кислоти; основний стандартний розчин фосфору (0,4394 г калію фосфорнокислого однозаміщеного висушують до постійної маси, розчиняють у колбі на 100 мл, 1 мл основного розчину містить 1 мг фосфору).

Методика визначення. У центрифужну пробірку вносять 2 мл бідистильованої води, 0,2 мл сироватки крові і 2,2 мл 10 %-ного розчину ТХО, перемішують і через 10 хв центрифугують 15 хв при 1,5 тис об/хв (10 хв при 3 тис. об/хв). У чисту пробірку відбирають 1,5 мл надосадової рідини (центрифугату), додають 1 мл молібденового реактиву, 1 мл розчину аскорбінової кислоти і рівно через 10 хв фотометрують на ФЕК-56М, КФК-2 чи КФК-3 при довжині хвилі 660 нм (червоний світлофільтр) проти дистильованої води в кюветі з товщиною робочого шару 5 мм.

Одночасно ставлять контроль на вміст фосфору у воді і реактивах, який потім вираховують із результатів дослідних проб.

Кількість неорганічного фосфору визначають за таблицею, що складена на основі стандартної кривої. Для її побудови до 1 мл основного розчину калію фосфорнокислого однозаміщеного додають 99 мл води. Потім у 6 пробірок вносять реактиви і воду згідно схеми (табл. 15).

Таблиця 15 – Схема приготування проб для побудови стандартної кривої

№ пробірки	Кількість робочого розчину, мл	10 %-ний розчин ТХО кислоти, мл	Вода бідистильована, мл	Кількість фосфору, мг
1	1	2,5	5,5	0,01
2	2	2,5	4,5	0,02
3	3	2,5	3,5	0,03
4	4	2,5	2,5	0,04
5	5	2,5	1,5	0,05
6	6	2,5	0,5	0,06

З кожної пробірки беруть по 1,5 мл суміші, переносять у дві інші, куди послідовно додають 1 мл молібденового реактиву і 1 мл аскорбінової кислоти. Через 10 хв колориметрують. По осі абсцис відкладають вміст фосфору, по осі ординат – відповідну йому екстинцію розчину.

Визначення неорганічного фосфору за методом УФ-детекції фосфомолібдатного комплексу

Реактиви: молібденовий реактив; стандартний розчин фосфору (50 мкг/мл; набір реактивів фірми “SIMKO Ltd”).

Принцип визначення. Неорганічний фосфор реагує з молібдатом амонію з утворенням фосфомолібдатного комплексу, який має максимум поглинання, величина якого пропорційна концентрації неорганічного фосфору.

Методика визначення. До 0,1 мл дослідної проби сироватки крові додають 3,0 мл молібденового реактиву (обережно! Реактив містить сірчану кислоту!). Суміш перемішують. Витримують 20 хв при кімнатній температурі і колориметрують при довжині хвилі 340 нм на спектрофотометрі або фотоелектроколориметрі проти контролю у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм.

Так само досліджують і стандартний розчин фосфору.

Контроль: до 0,1 мл дистильованої води додають 3,0 мл молібденового реактиву. Забарвлення стабільне протягом 1 год.

Вміст неорганічного фосфору визначають за формулою:

$$P, \text{ мкг/мл} = \frac{E_{\text{досл}} \times 50_{\text{мкг/мл}}}{E_{\text{ст}}}$$

де: $E_{\text{досл}}$ і $E_{\text{ст}}$ – поглинання відповідно дослідної проби та стандартного розчину; 50 мкг/мл – концентрація фосфору у стандартному розчині (табл. 16).

Наприклад: поглинання дослідної проби – 0,85, а стандартного розчину – 1,15. Вміст неорганічного фосфору у дослідній пробі буде становити: $0,85 \cdot 50 : 1,15 = 36,95$ мкг/мл. При концентрації неорганічного фосфору більше 80 мкг/мл, пробу сироватки крові слід розвести дистильованою водою і повторити дослідження (результат помножити на ступінь розведення). Якщо вміст фосфору менший 20 мкг/мл, об’єм проби слід збільшити до 0,2 мл (отриманий результат поділити на 2).

Концентрація неорганічного фосфору у сироватці крові *збільшується (гіперфосфатемія)* при надлишку його у раціоні, передозуванні вітаміну D та зменшенні активності прищитоподібних залоз (збільшується реабсорбція фосфору в нирках).

Таблиця 16 – Вміст неорганічного фосфору в сироватці крові здорових тварин

Вид тварин	Неорганічний фосфор	
	мг/100 мл	ммоль/л
Велика рогата худоба (дорослі тварини)	4,5–6,5	1,45–2,1
Телята	5,5–7,5	1,71–2,42
Вівці	4,5–6,5	1,45–2,42
Коні	4,5–5,5	1,45–2,1
Кози	6,0–8,0	1,91–2,58
Свині (дорослі)	4,5–6,5	1,45–2,1
Поросята відлучені	5,5–8,0	1,78–2,58
Собаки	4,5–6,0	1,45–1,95
Кролі	2,5–3,5	0,81–1,13
Норки	2,5–6,5	0,81–2,1
Песці	2,0–5,0	0,65–1,62
Лисиці	2,0–5,2	0,65–1,68

Зменшення вмісту неорганічного фосфору у сироватці крові (*гіпофосфатемія*) спостерігається при нестачі його у раціоні тварин, порушенні кишкового всмоктування та гіперфункції прищитоподібних залоз (збільшується виділення фосфору із сечею внаслідок зменшення його реабсорбції у ниркових каналцях), при рахіті та аліментарній остеодистрофії.

3.10. Визначення активності лужної фосфатази в сироватці крові

Лужна фосфатаза (фосфогідролаза моноєфірів ортофосфорної кислоти) є цинковмісним металопротеїном, який бере участь у мінеральному обміні. Вона розщеплює ефіри ортофосфорної кислоти з утворенням неорганічного фосфору. Крім кісткової тканини, лужна фосфатаза міститься у печінці, кишечнику, нирках і плаценті. Сироваткова лужна фосфатаза має змішане походження: кістково-печінково-кишкове. У молодняку великої рогатої худоби переважає кістковий ізофермент, а кишковий знаходять лише при патології. У кістках фермент синтезується остеобластами.

Принцип визначення. При інкубації сироватки крові з бета-гліцерофосфатом лужна фосфатаза розщеплює субстрат з утворенням неорганічного фосфору. З отриманого результату вираховують кількість неорганічного фосфору, визначеного в паралельній пробі. Отримана різниця характеризує активність ферменту. Визначається вона в одиницях Боданські (1 од. дорівнює 1 мг/100 мл неорганічного фосфору).

Обладнання та реактиви: визначення активності лужної фосфатази проводиться одночасно з визначенням кількості неорганічного фос-

фору, тому необхідні ті самі реактиви. Додатково використовується термостат (краще ультратермостат) та робочий розчин бета-гліцерофосфату. З метою економії реактиви готують безпосередньо перед роботою (табл. 17).

Таблиця 17 – Схема приготування робочого розчину бета-гліцерофосфату

Реактив	Кількість робочого розчину, мл		
	25	50	100
Бета-гліцерофосфат, г	0,125	0,25	0,5
Медінал, г	0,1063	0,2155	0,425
Вода, мл	12,5	25	50
0,1 N-ний розчин натрію гідроксиду, мл	0,7	1,4	2,8
Вода до	25	50	100

Методика визначення. При роботі з використанням 1 %-ного розчину аскорбінової кислоти послідовно виконують наступні дії:

– нагрівають у водяній бані лужний розчин бета-гліцерофосфату при температурі 37 °С 5 хвилин;

– у центрифужні пробірки (П₁) вносять 0,2 мл сироватки крові і швидко додають 2 мл підігрітого розчину бета-гліцерофосфату;

– пробірки (П₁) ставлять на 1 год у термостат при температурі 37 °С.

В подальшому у них проводять визначення лужної фосфатази;

– через 1 год пробірки (П₁) виймають з термостату і відразу ж у кожную додають 2,2 мл 10 %-ного розчину трихлороцтової кислоти. Після струшування вміст пробірок через кілька хвилин центрифугують при 1500 об/хв протягом 10 хвилин;

– до 1,5 мл центрифугату додають 1 мл молібденового реактиву і 1 мл 1 %-ного розчину аскорбінової кислоти. Рівно через 10 хв проби колориметрують на КФК-2 чи КФК-3 при довжині хвилі 660 нм в кюветі з товщиною робочого шару 0,5 см.

Отриману при колориметрії оптичну щільність проб, у яких визначається неорганічний фосфор, віднімають від оптичної щільності паралельних проб, в яких визначалась активність фосфатази. Потім за тією самою калібрувальною кривою чи таблицею знаходять активність ферменту.

Клінічне значення. Активність фосфатази у сироватці крові здорового молодняка великої рогатої худоби складає 1–5 од. Боданські або 5,35–26,75 ммоль/л за хвилину. Підвищення активності ферменту у сільськогосподарських тварин діагностують на ранніх стадіях рахіту. У синовіальній рідині молодняка активність ферменту особливо помітно підвищується при порушенні обміну фосфору та А-гіповітамінозі. Ви-

значення активності лужної фосфатази допомагає диференціювати деякі форми остеодистрофії. При остеомаляції показники активності ферменту підвищені, при остеопорозі – у межах норми.

Активність лужної фосфатази може збільшуватися при захворюваннях печінки (гепатит, гепатодистрофія, злоякісні пухлини), проте у цих випадках збільшується вона в основному за рахунок печінкового, а інколи і кишкового ізоферментів. Тому слід визначати ступінь термоінактивації ферменту. Сироватку крові нагрівають при 56 °С протягом 15 хв, а потім визначають загальну активність ферменту і паралельно в підігрій сироватці крові – активність термостабільних ізоферментів (печінкового і кишкового). При рахіті ступінь термоактивації не менший 75 %, а при хворобах печінки коливається у межах 40–75 %.

3.11. Визначення каротину в сироватці крові

Каротин є попередником вітаміну А. Перетворення його у вітамін А відбувається в стінці тонкого кишечника.

Принцип методу. Каротиноїди осаджуються спиртом, а потім екстрагуються з осаду петролейним ефіром або авіаційним бензином.

Реактиви: етанол (96 %), петролейний ефір чи авіаційний бензин, калій двохромовокислий ($K_2Cr_2O_7$).

Обладнання: КФК-2, КФК-3, ФЕК-56М, центрифуга, центрифужні пробірки, піпетки на 2 і 10 мл, автоматична піпетка (1000 мкл).

Методика визначення. В центрифужні пробірки вносять по 1 мл сироватки крові, 3 мл етилового спирту. Вміст пробірок перемішують тонкою скляною паличкою до утворення однорідної суміші, до якої додають 6 мл петролейного ефіру чи авіаційного бензину. Пробірки із сумішшю закривають корками, інтенсивно струшують протягом 1–2 хв, додають по 0,5 мл дистильованої води (по стінці пробірок) і ставлять у штатив на 10 хв для розділення органічної та неорганічної фаз. Верхній шар рідини, що містить каротиноїди (4–4,5 мл), відбирають у чисті пробірки і визначають оптичну щільність (ОЩ) дослідних зразків і робочого стандартного розчину калію двохромовокислого проти контрольного розчину (петролейний ефір) при довжині хвилі 440 нм (синій світлофільтр).

Основний стандартний розчин калію двохромовокислого: 36 мг $K_2Cr_2O_7$ розчиняють у 50 мл дистильованої води.

Робочий стандартний розчин калію двохромовокислого: змішують 5 мл основного стандартного розчину $K_2Cr_2O_7$ і 5 мл дистильованої води.

Розрахунок проводять за формулою:

$$X = (A : B) \times 1248,$$

де X – концентрація каротину в сироватці крові (мг/100 мл);

A – оптична щільність дослідного зразка;

B – оптична щільність робочого стандартного розчину калію двохромовокислого;

1248 – коефіцієнт для перерахунку каротину в мг/100 мл.

Кількість каротину у сироватці крові великої рогатої худоби залежить від віку. У сироватці крові телят до двомісячного віку, свиней і дрібної рогатої худоби каротин не визначається.

Зменшення вмісту каротину у крові – *гіпокаротинемія* спостерігається при недостатньому надходженні провітаміну з кормом.

3.12. Визначення вітаміну А та каротину в сироватці крові (за методом Бессея в модифікації В.І.Левченка зі співавт., 1998)

Суть методу полягає у лужному гідролізі та екстракції вітаміну А і каротину з сироватки крові (молозива) за допомогою малолетких розчинників з наступним спектрофотометричним вимірюванням ступеня поглинання світла розчином до і після руйнування вітаміну А під дією ультрафіолетових променів.

Обладнання: СФ-16, СФ-46 або фотоелектроколориметри КФК-2, КФК-3, ртутно-кварцева лампа ДРТ-400, вентилятор настільний, водяна баня, пробірки центрифужні циліндричні та пробірки об'ємом 10 мл з притертими пробками із скла “пірекс” або з кварцового скла, які пропускають ультрафіолетове проміння, піпетки.

Реактиви: а) 11 N-ний розчин КОН у 96°-ному етанолі (для приготування 100 мл розчину КОН необхідно до 5,6 г КОН додати 6,0 мл дистильованої води, розчинити його і довести об'єм до 100 мл етанолом, після чого суміш старанно перемішати); б) ксилол-октанова суміш (аа), яку готують за кілька годин до роботи.

Хід визначення. У центрифужні пробірки вносять по 2 мл сироватки крові (молозива) і спиртового розчину КОН, перемішують тонкою скляною паличкою до утворення однорідної суміші. Пробірки ставлять для гідролізу у водяну баню на 20 хв при 60 °С (через кожні 10 хв перемішують). Після гідролізу пробірки охолоджують протягом 10 хв у морозильній камері холодильника. У кожен пробірку додають по 4 мл ксилол-октанової суміші, пробірки закривають корками, інтенсивно струшують протягом 2–3 хв, знову охолоджують 5–7 хв, а потім центрифугують 10–15 хв при 1500–3000 об/хв. Верхній шар, що містить

екстракт вітаміну А і каротиноїдів у ксилол-октановій суміші, відбирають піпетками у пробірки із скла “пірекс”. Фотометрію проводять у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм, а для контролю використовують ксилол-октанову суміш. Визначення каротину на СФ-46 проводять при довжині хвилі 460 нм, ретинолу – 328 нм (на КФК-2 або КФК-3 відповідно 440 і 315 нм). Оптичну густина суміші для визначення вітаміну А вимірюють до і після опромінення пробірок ультрафіолетовими променями протягом 50 хв, для чого пробірки із скла “пірекс” щільно закривають притертими скляними пробками і ставлять на віддалі 15–20 см від лампи ДРТ-400 або ПРК-5. Для охолодження пробірок під час опромінення використовують два настільні вентилятори. За різницею оптичної густини, отриманої при фотометрії до і після опромінення, визначають концентрацію вітаміну А у сироватці крові (молозиві).

Розрахунок проводиться за формулами:

$$\begin{aligned} \text{Вітамін А, мкг/100 мл} &= (E_1 - E_2) \cdot 1274 \text{ (на СФ-16, СФ-46)} \\ &\text{або } (E_1 - E_2) \cdot 1500 \text{ (на КФК-2, КФК-3),} \end{aligned}$$

де: E_1 – екстинція розчину до опромінення при довжині хвилі 315 нм; E_2 – екстинція розчину після опромінення при довжині хвилі 315 нм; 1274 та 1500 – коефіцієнти для визначення вітаміну А.

$$\begin{aligned} \text{Каротин, мкг/100 мл} &= E \cdot 762 \text{ (на СФ-16; СФ-46)} \\ &\text{або } E \cdot 850 \text{ при роботі на КФК-2; КФК-3,} \end{aligned}$$

де: E – екстинція розчину при довжині хвилі 440 нм; 762 та 850 – коефіцієнти для визначення каротину.

Кількість каротину у сироватці крові залежить від віку і виду тварин. У новонароджених телят містяться сліди каротину, у одномісячних – 20–50 мкг/100 мл, у молодняку 3–6-місячного віку – 250–800, у тварин більш старшого віку і корів – 450–1250 мкг/100 мл. У пасовищний період вміст каротину може сягати 2 мг/100 мл сироватки. Незважаючи на те, що каротин засвоюється телятами з перших днів життя, оцінювати стан А-вітамінного обміну у телят за цим показником неможливо до 2–3-місячного віку, оскільки кількість його незначна і непоказова. У сироватці крові свиней та овець каротин відсутній.

Кількість каротину в сироватці крові свідчить про надходження його з кормами, але він не є критерієм забезпеченості тварин вітаміном А. Навіть при низькому вмісті каротину в сироватці крові А-гіповітаміноз може не розвиватися внаслідок того, що до складу преміксу входить ретинол. За певних умов (нестача йоду) А-гіповітаміноз, навпаки, розвивається при нормальній і навіть підвищеній кількості каротину в сироватці крові.

Одним із найбільш точних показників забезпеченості організму ретинолом є його рівень у сироватці крові. За його вмістом можна діагностувати А-гіповітаміноз. У сироватці крові клінічно здорових телят 5–10-денного віку вміст вітаміну А має становити 9–15 мкг/100 мл, у телят місячного віку – 12,5–25; тримісячного – 15–35; у молодяку старше тримісячного віку – 30–80 мкг/100 мл. Вміст вітаміну А у корів у стійловий період становить 25–80 мкг/100 мл; у пасовищний – 40–150; у свиней – 20–50; у овець і коней – 15–25 мкг/100 мл.

3.13. Визначення глюкози у крові

Вуглеводи – головні складові живлення сільськогосподарських тварин і найважливіше джерело енергії. У моногастричних тварин вуглеводи кормів у кишечнику розкладаються до моноцукрів (глюкози, фруктози та галактози). Фруктоза і галактоза у стінці тонкого кишечника перетворюються у глюкозу, яка всмоктується в кров, надходить до тканин, а надлишок її відкладається у печінці та м'язах у вигляді глікогену.

У жуйних більша частина вуглеводів у передшлунках ферментується до ЛЖК – оцтової, пропіонової та масляної кислот. З пропіонової кислоти у печінці і частково у стінці травного каналу синтезується глюкоза (глюконеогенез). Лише 10 % глюкози кормів всмоктується у тонкому кишечнику.

Одним із показників обміну вуглеводів є вміст глюкози в сироватці крові, який визначається кількома методами: ферментативним глюкозооксидазним, орто-толуїдиновим, за методом Сомоджі, Хагедорна-Іенсена, Борисова (з пікриновою кислотою). Проте останні три методи дають завищені показники, оскільки разом з глюкозою визначаються й інші цукри.

Визначення глюкози за кольоровою реакцією з орто-толуїдином

Принцип методу. Глюкоза при нагріванні з орто-толуїдином (*реактив токсичний !*) у розчині оцтової кислоти утворює сполуку, інтенсивність якої пропорційна концентрації глюкози.

Обладнання і реактиви: 1) КФК-2 (КФК-3); 2) 3 %-ний розчин трихлороцтової кислоти (ТХО); 3) орто-толуїдиновий реактив: у 94 мл льодяної оцтової кислоти розчиняють 0,15 г тіосечовини і додають 6 мл орто-толуїдину. Реактив – стійкий при зберіганні в холодильнику; 4) 500 мг%-ний стандартний розчин глюкози, приготовлений у 0,2 %-ному розчині бензойної кислоти.

Хід визначення. У пробірку вносять 1,8 мл 3 %-ного розчину ТХО кислоти і додають до неї 0,2 мл свіжої (!) або стабілізованої натрію фторидом крові. Центрифугують 15 хв при 1500 об/хв. До 0,5 мл центрифугату додають 4,5 мл орто-толуїдинового реактиву. Пробірки ставлять у киплячу водяну баню (вода має безперервно кипіти) рівно на 8 хв, потім виймають їх, зразу охолоджують проточною водою. Оптичну щільність вимірюють на фотоелектроколориметрі (ФЕК-56М, КФК-2, КФК-3) при довжині хвилі 590–650 нм (оранжевий або червоний світлофільтр) у кюветі з товщиною шару 1 см. Контроль: 0,5 мл ТХО + 4,5 мл орто-толуїдинового реактиву.

Стандартна проба ставиться як і дослідна, але замість крові беруть стандартний розчин глюкози з концентрацією 50–100 мг/100 мл.

Розрахунок проводять за формулою:

$$C_{\partial} = C_{cm} \times \frac{E_{\partial}}{E_{cm}},$$

де: C_{∂} – концентрація глюкози у пробі, мг/100 мл крові; C_{cm} – концентрація глюкози у стандарті; E_{∂} – оптична щільність дослідної проби; E_{cm} – оптична щільність стандарту.

Визначення глюкози у плазмі крові глюкозо-оксидазним методом

Принцип методу. Глюкоза в присутності глюкозо-оксидази окиснюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню. Останній у присутності пероксидази вступає в реакцію з фенолом і 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміну червоно-фіолетового кольору, інтенсивність якого визначається фотометрично.

Обладнання та реактиви: фотоелектроколориметр (КФК-2, КФК-3) або спектрофотометр; розчин ферментів (пероксидаза); фосфатний буферний розчин (рН 7,4), антикоагулянт (суха суміш 0,536 г натрію щавлевокислого і 3,4 г натрію хлориду); калібрувальний розчин (вміст глюкози – 10,0 ммоль/л).

Приготування робочого розчину. У колбу ємністю 200 мл перенести вміст флакона з буферним розчином, додати 100–120 мл дистильованої води, розчин ферментів і довести до мітки дистильованою водою.

Приготування розчину антикоагулянту. У колбу ємністю 500 мл внести суміш антикоагулянта і додати 400 мл дистильованої води, перемішати до повного розчинення кристалів солей. За необхідності розчин фільтрують.

Хід визначення. Для отримання плазми 0,1 мл крові змішують з 0,9 мл розчину антикоагулянта і центрифугують 10 хв при 2000 об/хв.

Визначення глюкози проводять на фотоелектроколориметрі (довжина хвилі 500–546 нм) або на спектрофотометрі (500 нм) у кюветі з товщиною оптичного шару 10 або 5 мм згідно схеми, поданої у таблиці 18. Якщо вміст глюкози у плазмі крові більше 27,7 ммоль/л, її потрібно розвести ізотонічним розчином у 5 разів і повторити визначення.

Таблиця 18 – Схема визначення глюкози у плазмі крові

Речовина	Калібрувальна проба	Дослідна проба	Контрольна проба
Калібрувальний розчин	0,04	–	–
Плазма крові	–	0,4	–
0,85 %-ний розчин NaCl	0,4	–	0,4
Робочий розчин	4,0	4,0	4,0
Усе змішати, витримати 20 хв при кімнатній температурі (18–25°C) або 12 хв у термостаті (37°C). Виміряти поглинання дослідної проби (А), калібрувального розчину (В) проти контрольної проби.			

Розрахунок вмісту глюкози у плазмі крові проводять за формулою:

$$C = 10 \times \frac{A}{B} \times K,$$

де: C – концентрація глюкози, ммоль/л; 10 – стабільна величина; A – поглинання дослідної проби; B – поглинання калібрувального розчину; K – коефіцієнт розведення плазми крові.

Підвищення вмісту глюкози (табл. 19) у крові – *гіперглікемія* – виникає після прийому великої кількості цукрів з кормами, при стресових станах, недостатній секреції інсуліну (цукровий діабет), гіперфункції надниркових залоз.

Таблиця 19 – Вміст глюкози у крові тварин

Вид тварин	мг/100 мл	ммоль/л	Вид тварин	мг/100 мл	ммоль/л
Телята до 3-місячного віку	40–75	2,22–4,16	Коні	55–95	3,05–5,27
Доросла велика рогата худоба	40–60	2,22–3,33	Собаки	60–80	3,33–4,44
Вівці	35–60	1,94–3,33	Кролі	75–95	4,16–5,27
Свині	45–75	2,5–4,16	Кури	80–140	4,44–7,77

Зменшення рівня глюкози у крові – *гіпоглікемія* – спостерігається при кетозі, гепатиті, гепатодистрофії, шлунково-кишкових та респіраторних захворюваннях молодняку, гіпоглікемії поросят, гіперінсулінемії.

3.14. Визначення кетонових тіл

У процесі окиснення ліпідів утворюються кетонові тіла: бета-оксимаєляна, ацетооцтова кислоти і ацетон. Основними місцями їх синтезу є печінка, стінки передшлунків та молочна залоза корів. Бета-оксимаєляна і ацетооцтова кислоти використовуються в якості джерела енергії. Визначаються кетонові тіла в крові експрес-методом, йодометричним методом Енгфельда у модифікації Лейтеса та Одинової, колориметричним методом Нейтельсона.

Експрес-метод-тест для визначення вмісту кетонових тіл

Реактиви: натрію нітропрусид – 1,5 г, амонію сульфат – 50 г, натрію карбонат зневоднений – 25 г. Всі реактиви ретельно розтирають у дрібний порошок і зберігають у темній скляній посудині в сухому місці.

Обладнання: білий кахель з канавками або предметне скло, розташоване на білому папері.

Хід визначення. На кахель чи скло наносять 0,1–0,2 г порошку, додають 2–3 краплі сироватки крові і витримують 5 хв. Поява рожево-фіолетового забарвлення вказує на позитивний результат. Мінімальний рівень кетонових тіл у крові, який дає позитивну реакцію – 10 мг/100 мл (1,7 ммоль/л). Швидкість появи забарвлення та його інтенсивність пропорційні концентрації кетонових тіл у дослідній пробі. Якщо інтенсивне фіолетове забарвлення суміші виникає негайно, це свідчить про наявність у пробі 50–80 мг/100 мл (8,3–26,7 ммоль/л) кетонових тіл, слабого забарвлення після 3 хв – 10–30 мг/100 мл (1,7–5,0 ммоль/л) кетонових тіл.

В нормі у великої рогатої худоби у крові міститься 2–7 мг/100 мл (0,34–1,2 ммоль/л) кетонових тіл, у свиней – 0,5–2,5 мг/100 мл (0,094–0,43 ммоль/л), у овець – 3–7 мг/100 мл (0,51–1,2 ммоль/л).

Підвищення вмісту кетонових тіл у крові – *кетонемія* – спостерігається при кетозі, а також є ознакою різних захворювань: пневмонії, міоглобінурії, гепатодистрофії, гепатиту (вторинна кетонемія). Для діагностики кетозу широко використовують визначення кетонових тіл у сечі експрес-методами, зокрема індикаторними смужками *Keto-Phan*, *Pentaphan* та ін.

ДОДАТКИ

Додаток А

Показники крові у клінічно здорової великої рогатої худоби

Показник	Одиниця вимірювання	Фізіологічні коливання	
		телята	дорослі тварини
1	2	3	4
Гемоглобін	г/100 мл г/л	9,0 – 12,5 90,0 – 125,0	9,5 – 12,5 95,0 – 125,0
Гематокрит	% л/л	30 – 40 0,30 – 0,40	35 – 45 0,35 – 0,45
Еритроцити	Т/л, або млн/мкл	5,0 – 8,5	5,0 – 7,5
Вміст гемоглобіну в одному еритроциті (ВГЕ)	пг фмоль	14,0 – 20,0 0,9 – 1,3	15,0 – 20,0 0,9 – 1,3
Лейкоцити	Г/л, або тис./мкл	5,0 – 12,0	6,0 – 10,0
Лейкограма: базофіли (Б)	%	0 – 1	0 – 2
еозинофіли (Е)	%	1 – 5	3 – 8
нейтрофіли: (Ю)	%	0 – 2	0
(П)	%	2 – 10	2 – 6
(С)	%	25 – 45	20 – 35
лімфоцити (Л)	%	45 – 65	40 – 70
моноцити (М)	Г/л, або тис./мкл %	4,0 – 10,0 2 – 5	2,5 – 5,5 2 – 7
Тромбоцити	Г/л, або тис./мкл	200 – 900	200 – 700
Відносна густина	кг/л, або г/см ³		1,042 – 1,052
Швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ)	мм/год		0,5 – 1,5 (вертикально)
Швидкість згортання	хв	2 – 7	5 – 6
Кислотно-лужний та газовий склад венозної крові: рН		7,33 – 7,41	7,38 – 7,43
рСО ₂	к Ра	4,8 – 6,2	4,2 – 6,0
рО ₂	к Ра	3,5 – 5,0	4,5 – 6,2
НСО ₃ ⁻	ммоль/л	20,0 – 30,0	25,0 – 30,0
ВЕ	ммоль/л	-2,5 – +2,5	+1,0 – +6,0
Лужний резерв	об % СО ₂ ммоль/л		46,0 – 66,0 19,0 – 27,0
Загальний білок	г/100 мл г/л	5,5 – 7,0 55,0 – 70,0	7,0 – 8,5 70,0 – 85,0
у т.ч.: альбуміни	%	40,0 – 60,0	40,0 – 50,0
альфа-глобуліни	%	7,0 – 13,0	10,0 – 20,0
бета-глобуліни	%	5,0 – 10,0	8,0 – 16,0
гамма-глобуліни	%	15,0 – 35,0	25,0 – 40,0
фібриноген	г/л		5,0 – 7,0
Залишковий азот	мг/100 мл ммоль/л	17,0 – 35,0 12,0 – 25,0	21,0 – 40,0 15,0 – 30,0

Продовження додатка А

1	2	3	4
Сечовина	мг/100 мл ммоль/л	18,0 – 40,0 3,0 – 6,5	20,0 – 36,0 3,5 – 6,0
Креатинін	мг/100 мл мкмоль/л	0,8 – 1,2 70,0 – 110,0	0,3 – 1,5 80,0 – 130,0
Азот амінокислот	мг/100 мл ммоль/л	3,0 – 7,0 2,6 – 4,9	4,0 – 8,0 2,8 – 4,3
Аміак	мг/100 мл мкмоль/л		20,0 – 50,0 10,0 – 30,0
Колоїдно-осадові проби:			
судемова	мл	1,65 – 2,65	1,6 – 2,6
з міді сульфатом	мл	2,0 – 2,5	2,1 – 2,3
Вельтмана	мл	0,3 – 0,6	0,4 – 0,5
Глюкоза	мг/100 мл ммоль/л	50,0 – 70,0 3,0 – 4,2	40,0 – 60,0 2,5 – 3,5
Молочна кислота	мг/100 мл ммоль/л	7,0 – 13,0 0,8 – 1,44	5,0 – 14,0 0,5 – 1,5
Піровиноградна кислота	мг/100 мл мкмоль/л		0,8 – 1,7 110,0 – 190,0
Холестерин загальний	мг/100 мл ммоль/л	50,0 – 155,0 1,3 – 4,0	90,0 – 175,0 2,3 – 4,5
Кетонові тіла	мг/100 мл ммоль/л		1,0 – 6,0 0,17 – 1,0
Бета-оксимасяня кислота	мг/100 мл ммоль/л		1,0 – 4,6 0,17 – 0,8
Білірубін загальний	мг/100 мл мкмоль/л	0,01 – 0,26 0,3 – 4,5	0,01 – 0,4 0,3 – 7,0
Білірубін зв'язаний	мг/100 мл мкмоль/л	0,0 – 0,1 0,0 – 2,0	0,00 – 0,01 0,0 – 0,2
Кальцій загальний	мг/100 мл ммоль/л	10,0 – 12,5 2,5 – 3,12	9,5 – 12,5 2,4 – 3,12
Фосфор неорганічний (Р)	мг/100 мл ммоль/л	5,5 – 7,5 1,8 – 2,4	4,5 – 6,5 1,5 – 2,2
Магній (Mg)	мг/100 мл ммоль/л	1,2 – 3,0 0,5 – 1,15	2,0 – 3,0 0,8 – 1,15
Натрій (Na ⁺)	мг/100 мл ммоль/л	275,0 – 333,0 120,0 – 145,0	310,0 – 350,0 135,0 – 155,0
Калій (K ⁺)	мг/100 мл ммоль/л	16,8 – 21,0 4,3 – 5,3	15,6 – 20,0 4,0 – 5,1
Хлор (Cl ⁻)	мг/100 мл ммоль/л	280,0 – 370,0 80,0 – 105,0	320,0 – 390,0 90,0 – 110,0
Залізо (Fe)	мкг/100 мл мкмоль/л	84,0 – 140,0 15,0 – 25,0	90,0 – 155,0 15,0 – 30,0
Мідь (Cu)	мкг/100 мл мкмоль/л	65,0 – 102,0 10,0 – 16,0	80,0 – 130,0 12,6 – 22,0

Продовження додатка А

1	2	3	4
Кобальт (Co)	мкг/100 мл мкмоль/л	2,3 – 5,9 0,4 – 1,0	2,1 – 5,0 0,36 – 0,85
Цинк (Zn)	мкг/100 мл мкмоль/л	104,0 – 160,0 16,0 – 25,0	97,0 – 150,0 15,0 – 23,0
Марганець (Mn)	мкг/100 мл мкмоль/л	15,0 – 22,0 2,3 – 4,0	14,0 – 25,0 2,5 – 4,5
Йод (J)	мкг/100 мл нмоль/л	5,0 – 10,0 394,0 – 788,0	4,0 – 8,0 315,0 – 630,0
Селен (Se)	мкг/100 мл мкмоль/л	7,5 – 16,0 0,9 – 2,1	7,0 – 15,0 0,8 – 1,9
Каротин	мкг/100 мл мкмоль/л	20,0 – 50,0 0,4 – 0,9	450,0 – 2000,0 9,3 – 18,6
Вітаміни			
А – стійловий період	мкг/100 мл мкмоль/л	12,5 – 25,0 0,5 – 0,9	25,0 – 80,0 0,9 – 2,8
пасовищний період	мкг/100 мл мкмоль/л	– –	40,0 – 150,0 1,4 – 5,2
Токоферол	мг/100 мл мкмоль/л	0,03 – 0,2 0,7 – 4,6	0,3 – 0,9 7,2 – 21,0
Аскорбінова кислота	мг/100 мл мкмоль/л		0,6 – 1,5 34,0 – 85,0
Аспарагінова трансаміназа (АСТ)	од/л	10,0 – 50,0	10,0 – 50,0
Аланінова трансаміназа (АЛТ)	од/л	10,0 – 20,0	10,0 – 30,0
Гамма-глутамілтрансфераза (ГГТ)	од/л	10,0 – 20,0	7,0 – 15,0
Глутаматдегідрогеназа (ГЛДГ)	од/л	1,0 – 7,0	1,0 – 8,0
Сорбітдегідрогеназа (СДГ)	од/л	0,0 – 4,0	0,0 – 5,0

Додаток Б

Коефіцієнти перерахунку “старих” одиниць в одиниці SI і навпаки

Система	Компонент і величина	Попередня одиниця	Коефіцієнт перерахунку “старої” одиниці в нову	Нова одиниця	Коефіцієнт перерахунку нової одиниці в “стару”	Відносна молекулярна маса або відносна атомна одиниця маси
1	2	3	4	5	6	7
П (плазма)	азот	мг%	0,714	ммоль/л	1,40	14,0
С (сироватка)	амінокислот	мг/л	0,0714	ммоль/л	14,01	
П, С	альбумін (69000)	г/дл г/л	10 1 144,9	г/л г/л мкмоль/л	0,1 1,0 0,6900	69000
П, С	амоній	мкг/дл мг/л	0,587 58,72	мкмоль/л мкмоль/л	1,703 0,017	17,03
П, С	аскорбінова кислота	мг/дл	56,78	мкмоль/л	0,01761	176,126
П, С	білок	г% мг%	10 0,01	Г/л г/л	0,1 100	
П, С	білірубін	мг/дл мг/л	17,1 1,71	мкмоль/л мкмоль/л	0,05847 0,5847	584,68
П, С	галактоза	мг/дл мг/л	0,0555 0,00555	ммоль/л ммоль/л	18,02 180,2	180,16
К	гемоглобін	пг	0,06206	фмоль	16,11	≈64458
К	гемоглобін	г/дл г/дл	0,6206 10	ммоль/л г/л	1,611 0,1	≈16114,5
П	гідрокарбонат	мекв/л	1	ммоль/л	1,0	
П, С	глюкоза	мг/дл г/л	0,0555 5,551	ммоль/л ммоль/л	18,02 0,1802	180,57
Добова сеча	глюкоза	г	5,551	ммоль	0,1802	
П, С	залізо	мкг/дл	0,1791	мкмоль/л	5,585	55,85
С	імуноглобулін	мг/мл мг/дл г/дл	1 0,01 10	г/л г/л г/л	1,0 100 0,1	
П, С	інсулін	мкг/л МЕ/л	172,2 7,175	пмоль/л пмоль/л	0,0058 0,1394	5807,65
П, С	йод (йод зв'язаний з білком – БЗЙ)	мкг/дл мкг/дл	78,8 7,880	нмоль/л пмоль/л	0,01269 0,1269	126,9

Продовження додатка Б

1	2	3	4	5	6	7
П, С	калію іон	екв/л мг/л	1 0,02558	ммоль/л ммоль/л	1,0 3910	39,1
П, С	кальцій	мекв/л мг/дл	0,5 0,25	ммоль/л ммоль/л	2 4,0	40,08
П, С	каротиної- ди	мкг/дл мг/дл	0,01863 18,63	мкмоль/л мкмоль/л	53,69 0,05369	536,9
П	лактат	мг/дл мг/л	0,111 0,0111	ммоль/л ммоль/л	9,008 90,08	90,08
П	ліпіді за- гальні	мг/дл	0,01	г/л	100,0	
П, С	магній	мг/дл мг/л	0,4114 0,04114	ммоль/л ммоль/л	2,431 24,3	24,3
П, С	мідь	мкг/дл мг/л	0,1574 15,74	мкмоль/л мкмоль/л	6,355 0,06355	63,55
К	метгемо- глобін	г/дл г/л г/дл	620,6 62,006 10	мкмоль/л мкмоль/л г/л	0,001611 0,01611 0,1	16114,5
П, С	сечовина	мг/дл г/дл	0,1665 16,65	ммоль/л ммоль/л	6,006 0,06006	60,055
П, С	натрію іон	мекв/л мг/дл	1 0,4350	ммоль/л ммоль/л	1 2,23	22,3
П, К	піруват	мг/дл мг/л	113,6 11,36	мкмоль/л мкмоль/л	0,00806 0,0806	83,063
П, С	ретинол	мкг% мг/л	0,0349 0,00349	мкмоль/л мкмоль/л	28,65 286,5	296,456
П, С	тироксин	мкг%	12,87	нмоль/л	0,0777	776,9
П, С	токоферол	мг% мг/л	24 2,4	мкмоль/л мкмоль/л	0,04167 0,4167	416,69
П, С	трансфе- рин	мг%	0,01	г/л	100	80000
П	трийодти- ронін	нг/дл	0,01536	нмоль/л	65,1	65
П, С	фосфор неорг.	мг/дл мг/л	0,3229 0,03229	ммоль/л ммоль/л	3,097 30,97	
П, С	фосфоліпід	г/л	1,292	ммоль/л	0,774	774
П, С	хлорид	мекв/л мг/дл	1 0,282	ммоль/л ммоль/л	1 3,545	35,5
П, С	холестерин	мг/дл г/л	0,02586 2,586	ммоль/л ммоль/л	38,67 0,3867	386,66

Примітка. П – плазма; С – сироватка; К – кров; мг/дл = мг в 100 мл; мг% – мг в 100 мл

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ветеринарная диспансеризация сельскохозяйственных животных: Справочник /В.И.Левченко, Н.А.Судаков, Г.Г.Харута и др.; Под ред. В.И.Левченко. – К.: Урожай, 1991. – 304 с.
2. Внутренние незаразные болезни сельскохозяйственных животных /Б.М.Анохин, В.М.Данилевский, Л.Г.Замарин и др.; Под ред. В.М.Данилевского. – М.: Агропромиздат, 1991. – 575 с.
3. Внутрішні хвороби тварин /В.І.Левченко, І.П.Кондрахін, М.О.Судаков та ін.; За ред. В.І.Левченка. – Біла Церква, 1999. – Ч. 1. – 376 с.
4. Внутрішні хвороби тварин /В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, В.В. Влізло та ін.; За ред. В.І. Левченка. – Біла Церква, 2001. – Ч. 2. – 544 с.
5. Кондрахин И.П. Алиментарные и эндокринные болезни животных. – М.: Агропромиздат, 1989. – 256 с.
6. Клінічна діагностика хвороб тварин /В.І.Левченко, М.О.Судаков, Й.Л.Мельник та ін.; За ред. В.І.Левченка. – К.: Урожай, 1995. – 368 с.
7. Клиническая диагностика внутренних незаразных болезней животных /А.М.Смирнов, П.Я. Конопелько, Р.П. Пушкарев и др. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1988. – 512 с.
8. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: Справочное издание / И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов и др. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.
9. Левченко В.І., Влізло В.В. Діагностика, лікування та профілактика хвороб печінки у великої рогатої худоби: Методич. реком. – Київ, 1998. – 22 с.
10. Исследование крови животных и клиническая интерпретация полученных результатов (Методические рекомендации для студентов ветеринарного факультета) /В.И. Левченко, П.Ф. Шевчук, Н.П. Прудеус и др. – Белая Церковь, 1987. – 40 с.

ЗМІСТ

ВСТУП	3
Діагностичне значення дослідження крові.....	3
Взяття крові у тварин	3
1. Фізичне дослідження крові	5
1.1. Визначення відносної густини крові	5
1.2. Визначення швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ)	6
1.3. Визначення величини гематокриту	7
1.4. Визначення швидкості згортання крові	9
1.5. Визначення ретракції кров'яного згустку	9
1.6. Визначення осмотичної резистентності еритроцитів	9
1.7. Визначення кислотної резистентності еритроцитів	10
2. Морфологічне дослідження крові	11
2.1. Підрахунок кількості еритроцитів	11
2.2. Підрахунок кількості лейкоцитів	13
2.3. Підрахунок кількості еритроцитів та лейкоцитів на ГЦМК-3.....	14
2.4. Підрахунок кількості тромбоцитів	15
2.5. Підрахунок кількості клітин крові у птиці.....	16
2.6. Лейкограма	17
2.7. Гематологічний профіль	18
3. Хімічне дослідження крові	20
3.1. Визначення у крові вмісту гемоглобіну.....	20
3.2. Визначення індексів "червоної" крові	22
3.3. Визначення резервної лужності та кислотної ємності крові	23
3.4. Визначення загального білка та білкових фракцій	27
3.5. Визначення загальної кількості імуноглобулінів	29
3.6. Колоїдно-осадові проби	31
3.7. Визначення білірубину в сироватці крові	33
3.8. Визначення загального кальцію у сироватці крові	35
3.9. Визначення неорганічного фосфору в сироватці крові	37
3.10. Визначення активності лужної фосфатази в сироватці крові	40
3.11. Визначення каротину в сироватці крові	42
3.12. Визначення вітаміну А та каротину в сироватці крові (за методом Бессея в модифікації В.І.Левченка зі співавт., 1998)	43
3.13. Визначення глюкози у крові	45
3.14. Визначення кетонових тіл	48
Додатки	49
Список літератури	54

**ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ ТВАРИН
ТА КЛІНІЧНА ІНТЕРПРЕТАЦІЯ
ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ**

Методичні рекомендації

**Володимир Іванович ЛЕВЧЕНКО,
Василь Минович СОКОЛЮК,
Василь Михайлович БЕЗУХ,
Михайло Ярославович ТИШКІВСЬКИЙ,
Віктор Олександрович ГАРЬКАВИЙ та ін.**

Редактор О.М. Трегубова
Комп'ютерна верстка: С.І.Сидоренко

Здано до складання 26.04.2002. Підписано до друку 20.06.2002 р.
Формат 60×84/16. Ум. друк. арк. 3,26. Зам. 1373. Тираж – 500. Ціна – 1 грн 60к.
Сектор оперативної поліграфії РВІКВ БДАУ.
09117. Біла Церква, Соборна пл., 8/1, тел. 3–11–01.