

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Клеми Андрей Юрьевич
Должность: Ректор
Дата подписания: 18.02.2019 07:57:38
Уникальный программный ключ:
6073860a89a7075d1208534895966876c9810af6547b6d40cdf1bdc60ae2

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Приморская государственная сельскохозяйственная академия»
Институт животноводства и ветеринарной медицины

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Учебное пособие

для обучающихся направления 36.03.01

Ветеринарно-санитарная экспертиза

ФГБОУ ВО Приморская ГСХА

Уссурийск 2019

УДК 619:616-076
ББК 48.7
Л 125

Рецензенты: И.Л. Камлия, к.вет.н., доцент кафедры морфологии и физиологии;
Г.Г. Колтун, к. с-х. н., доцент кафедры эпизоотологии, зоогигиены,
ветсанэкспертизы

Лабораторная диагностика: учебное пособие для обучающихся
направления 36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза ФГБОУ ВО
Приморская ГСХА / ФГБОУ ВО Приморская ГСХА; сост. И.И. Шулепова. –
Уссурийск: ФГБОУ ВО, 2019. – 88 с.

Учебное пособие «Лабораторная диагностика» представляет собой
руководство по лабораторным исследованиям в ветеринарии. Цель
предлагаемого пособия – изучение современных методов и последовательных
этапов лабораторной диагностики с целью распознавания болезней и
осуществления лечебно-профилактических мероприятий.

Издается по решению методического совета ФГБОУ ВО Приморская ГСХА

© ШУЛЕПОВА И.И, 2019

© ФГБОУ ВО Приморская ГСХА, 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
1. Ветеринарные лаборатории.....	5
2. Виды лабораторных исследований.....	10
3. Исследование содержимого рубца и желудка.....	18
3.1 Исследование содержимого рубца.....	18
3.2 Исследование содержимого желудка.....	19
4. Исследование кала.....	24
4.1 Виды исследования кала.....	24
4.2 Копрологическая диагностика.....	31
5. Исследование мочи.....	33
5.1 Способы получения и хранения мочи.....	33
5.2 Исследование физических свойств мочи.....	34
5.3 Исследование химических свойств мочи.....	38
5.4 Исследование осадка мочи.....	42
6. Исследование крови.....	49
6.1 Значение гемоанализа.....	49
6.2 Состав крови.....	52
6.3 Физическое исследование крови.....	53
6.4 Биохимическое исследование крови.....	59
6.5 Морфологическое исследование крови.....	64
6.6 Изменения лейкограммы.....	74
7. Исследование костно-мозгового пунктата.....	79
Список литературы.....	87

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторное дело предусматривает методическое, техническое, организационное обеспечение и практическое выполнение лабораторных исследований:

- биологических жидкостей человека и животных с целью профилактики, диагностики болезней и контроля над результатами лечения;
- объектов окружающей среды для определения степени их загрязнения биологическими, химическими агентами, а так же воздействия физических факторов;
- по охране окружающей природной среды, обеспечению оптимальных санитарно-гигиенических условий труда работников агропромышленного комплекса, ветеринарно-санитарного состояния животных, животноводческих помещений, пастбищ, кормов, воды;
- продуктов и сырья животного и растительного происхождения с целью профилактики заболеваний животных и предупреждения распространения инфекционных и инвазионных болезней человека и животных.

Ветеринарные лаборатории (лат. Laboro – работаю), учреждения в которых проходят исследования различных объектов, изучение их свойств, состава, строения и происходящих в них химических и биологических процессов. К ним относятся ветлаборатории и научно-исследовательские учреждения. Последние предназначены для исследовательских целей и организованы на основе специальных положений.

По положению в системе Государственной ветеринарной сети ветлаборатории разделяются на Республиканские, областные, городские, межрайонные и районные.

Основные задачи ветлабораторий: разработка и организация по заданию ветеринарных органов ветеринарно-санитарных мероприятий по

предупреждению и ликвидации заболеваний; проведение диагностических исследований и исследований кормов, воды, мяса и молока и других пищевых продуктов; оказание помощи ветеринарным учреждениям и ветеринарным работникам хозяйств и предприятиям в зоне деятельности ветеринарных лабораторий в организации ветеринарно-санитарных мероприятий.

Для выполнения своих задач ветлаборатории производят:

- бактериологические, биологические, серологические, токсикологические, патологоанатомические, гистологические и др. исследования материалов, поступающих из хозяйствующих субъектов или ветучреждений;
- аллергические и другие исследования животных непосредственно в хозяйствах и частном секторе;
- сообщение учреждениям и лицам, приславшим материал результатов исследований и заключений с соответствующими рекомендациями;
- изучение ветеринарно-санитарного и эпизоотического состояния хозяйствующих субъектов и населенных пунктов;
- анализ эффективности ветеринарных мероприятий в зоне деятельности лабораторий;
- разработку и организацию ветеринарно-санитарных мероприятий по предупреждению и ликвидации заболеваний животных в обслуживаемой зоне;
- консультацию ветеринарных учреждений и отдельных специалистов, а также работников хозяйств, фермеров, частных лиц и предпринимателей по вопросам борьбы с болезнями животных;
- внедрение в практику работы ветучреждений, хозяйств, ферм и частного сектора передового опыта ветеринарного обслуживания и достижений ветеринарной науки, информирование и пропаганду ветеринарных знаний среди населения в целом.

1. ВЕТЕРИНАРНЫЕ ЛАБОРАТОРИИ

Структура и штаты лабораторий зависят от местных условий и объема производимых исследований. Так например, для областных лабораторий

предусмотрены отделы: бактериологический, серологический, протозоологический, химико-токсикологический, клинико-диагностический, пищевой, патологоанатомический, радиологический и отдел по исследованию и анализу кормов. Некоторые ветлаборатории кроме того, имеют производственный отдел и группу эпизоотологии. В межрайонных и районных лабораториях как правило, имеются бактериологические, серологические и химико-токсикологические отделы.

Ветеринарную лабораторию возглавляет директор - ветеринарный врач; отделы –заведующий ветврач; штат отделения – лаборант и препаратор или санитар. В штат некоторых отделов могут входить ветврачи специалисты соответствующих профилей.

По типовому проекту для областной ветлаборатории предусматривают следующие строения: лабораторный корпус, радиологическая лаборатория с резервуарами для радиоактивных сточных вод, виварий, гараж, склад дезосредств и сарай, печь для сжигания трупов и патологоанатомических материалов.

Ветеринарная лаборатория должна иметь светлые, просторные помещения (предпочтительна коридорная система комнат с расположением их по обе стороны коридора). Высота потолков не менее 3 м, ширина коридоров 2,5-3 м, размеры окон 2,2-2,4 м. Площадь окон должна составлять 15-20% от общей площади освещаемого помещения. Двери должны иметь ширину не менее метра, высоту 2,25 м. Полы застилаются линолеумом или плиткой. Стены красят масляной краской, а в помещениях с большим скоплением паров стены выкладываются плиткой. В типовых ветлабораториях для выполнения отдельных видов работ и исследований оборудуются специальные помещения.

Приемная комната – для поступающего для исследования материала. В этой комнате устанавливают стол покрытый линолеумом, пластиком или стеклом, на котором устанавливаются эмалированные ванночки, пинцеты, ножницы, скальпель и банку с дезинфицирующим раствором. На этом столе

производят прием и сортировку поступающего материала. На отдельном столе регистрируют поступающий материал и выдают документы.

Комната для вскрытия животных должна быть светлой и хорошо вентилируемой, иметь непроницаемые полы, покрытые бетоном или плиткой, и стены выкрашенные масляной краской или выложенные плиткой, водопровод с холодной и горячей водой и канализацию. Во вскрывочной комнате устанавливают стол для вскрытия мелких животных, столик для инструментов, подвижной столик для записи посевов исследуемого материала для записи протоколов вскрытий и шкафы для хранения инструментов, халатов, перчаток, реактивов и др.

Бактериологический кабинет - для проведения бактериологических исследований. В этом кабинете оборудуют стеклянный бокс площадью 7-8 кв.м. Кабинет и бокс оснащают бактерицидными лампами. Рабочий стол бактериолога располагают на расстоянии не менее 1 м от окна и покрывают линолеумом или стеклом. На столе размещают реактивы, приборы, аппараты и принадлежности для приготовления, окрашивания и микроскопии. В боксе должен быть стол покрытый стеклом, на котором располагают все необходимое для посевов исследуемого материала на питательные среды и пересевов бактериальных культур. Для выращивания микроорганизмов в бактериологическом кабинете размещают термостат. В хорошо оборудованных бактериологических кабинетах имеются затемненные боксы для люминесцентной микроскопии. Бактериологические кабинеты должны иметь аппараты для встряхивания, центрифуги, микроанаэроостат для выращивания анаэробов и др. лабораторное имущество.

Кабинет Асколи – для исследования материала на сибирскую язву должен иметь лабораторный стол на котором размещают штативы для пробирок, пастеровские и измерительные пипетки, биологические препараты др. материалы, необходимые для реакции преципитации. Для разливов сывороток и антигенов в пробиркижелательно иметь аппараты Кольцова или Флоринского, а так же автоклав для стерилизации проб.

Серологический кабинет - для постановки серологических реакций. Оборудуется лабораторными столами, столом для нагревательных приборов, и водяных бань и шкафами для лабораторной посуды, биологических препаратов, реактивов и др.

Бактериологическая кухня – для приготовления питательных сред оборудуется лабораторными столами для фильтрования и разлива питательных сред, нагревательными приборами, аппаратами для стерилизации и шкафами для хранения посуды, реактивов, готовых питательных сред и др.

Автоклавная - в которой устанавливаются автоклавы для стерилизации питательных сред, посуды, патологического материала.

Моечная комната – для мойки посуды, инструментов и их сушки. Оборудуется столом, покрытым вытяжным шкафом для вытягивания из посуды вредных паров и газов и для последующего ее мытья хромовой смесью, а так же двумя открытыми столами для мытья посуды щелочными растворами и чистой водой. Над столами подвешивают доски или полки для сушки посуды.

Клинико-диагностический кабинет - для клинико-диагностических исследований крови, желудочного сока, мочи, кала. Кабинет оборудуют лабораторными столами и соответствующей аппаратурой для выполнения необходимых исследований.

Гистологический кабинет – для патолого-гистологических исследований. Он оснащается всем необходимым для изготовления гистологических срезов. Для хранения банок с консервированными препаратами необходимо иметь лабораторный шкаф или музейную витрину.

Химико-токсикологический кабинет – для исследований фуража, продуктов животного происхождения, воды, почвы, патологического материала на содержание ядовитых веществ. Кабинет оборудуют вытяжными и лабораторными шкафами и столами.

Пищевая лаборатория – для санитарно-гигиенических исследований

мяса, молока, рыбы, яиц и др. продуктов.

Кабинет для исследований качества и анализа кормов – используется для определения состава и качества кормов (белков, солей, каротина, витаминов, кислотности силоса и т.д). Кабинет должен быть обеспечен вытяжным и лабораторными шкафами и столами. В вытяжном шкафу размещают электрические приборы для минерализации и сжигания кормов.

Гельминтонротозоологический кабинет – для проведения гельминтологических, арахно-энгомологических и прото-зоологических исследований. На столах размещают все необходимое для проведения гельминтоскопии и гельминтолярвоскопии и др. исследований.

В некоторых лабораториях имеется *производственный отдел* для изготовления биостимуляторов и др. препаратов. В помещении отделения размещают термостатную и боксы.

Кроме указанных кабинетов в лабораторном корпусе областных ветеринарных лабораторий по типовому проекту предусматриваются кабинет для врачей эпизоотологов, склад для реактивов, материальный склад для хранения оборудования, посуды, приборов, фотолаборатория, душ, раздевалки.

Для исследований на *радиоактивную загрязненность* продуктов животноводства, кормов, воды и др. материалов в областных лабораториях созданы радиологические отделы с резервуарами для радиоактивных сточных вод. Эти отделы размещают в отдельном здании или в общем корпусе с отдельным выходом.

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислите отделы ветеринарной лаборатории.
2. Перечислите основные помещения ветеринарных лабораторий.
3. Перечислите оборудование бактериологического отдела.
4. Перечислите оборудование клинко-диагностического кабинета.

5. Перечислите санитарные требования по устройству ветеринарных лабораторий.

2. ВИДЫ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Гистологическое исследование - лабораторный метод диагностики заболеваний, основанный на оценке формы и состояния клеток. Гистологическое исследование – крайне важная мера определения характера патологического процесса и в ряде случаев является основополагающим фактором при утверждении наиболее точного диагноза. Данный вид исследования основан на изучении с помощью микроскопа особенностей строения клеток, клеточного состава органов и тканей организма животных в норме и при патологических процессах.

Все чаще ветеринарам приходится диагностировать раковые заболевания у домашних животных. Изменения на клеточном уровне, прежде всего, бывают вызваны некачественными сухими кормами, могут явиться следствием перенесенной животным операции по удалению яичников, кастрации, особенно среди кошек и котов, которые оказывают серьезное влияние на организм животных на гормональном уровне. Злокачественные опухоли не определимы на глаз. Для точной диагностики подобных заболеваний необходимо провести гистологическое исследование, которое является самым важным в диагностике злокачественных опухолей, позволяет уточнить диагноз, типизировать вид опухолевого процесса - определить вид опухоли: является ли она злокачественной или не несет крайней опасности организму животного. После проведения гистологического исследования ветеринарный врач сможет назначить адекватное и наиболее эффективное лечение. Гистологическое исследование животных на ранних сроках развития злокачественной опухоли дает шанс выжить. Гистологическое исследование проводится из кусочков органов, полученных при биопсии и после проведения оперативных вмешательств, также и у павших животных. Фрагменты ткани

или органа, отобранные с диагностической целью, запрещается делить на части и посылать в разные лаборатории.

При микроскопическом исследовании тканей и органов большое значение имеет правильность взятия и фиксация патологического материала. Кусочки для исследования необходимо брать из свежих трупов. Материал из подгнивших, а также из замороженных трупов чаще всего не пригоден для гистологического исследования в силу значительных изменений ткани. При взятии материала необходимо учитывать анатомио-гистологическое строение органа. Например, кусочки из почек, надпочечников, лимфатических узлов, стенки желудка, кишечника необходимо брать с таким расчетом, чтобы попали все слои органа. Из органов, имеющих однородное строение (печень, селезенка, легкое и др.) можно брать из любых мест. Следует учитывать также характер специфических изменений для той или иной болезни. Например, при исследовании на туберкулез, необходимо брать кусочки вместе с очажками, и, наоборот, не следует вырезать кусочки из участков эмфиземы легких. Вырезать кусочки следует на границе пораженной и макроскопически не измененной ткани. При распространении патологического процесса рекомендуется брать несколько кусочков: один из наиболее пораженных отделов, другой на границе с нормальной тканью. Отобранный материал помещают в фиксирующую жидкость. Из наиболее распространенных, доступных и универсальных фиксаторов следует указать на формалин. Обычный продажный формалин принимают за 100% раствор, который содержит 35-40% водного раствора формальдегида. Применяют обычно 10% водный раствор нейтрального формалина, при расчете на формальдегид 4%, для чего 1 часть неразведенного формалина разводят 9 частями водопроводной воды, но ни в коем случае дистиллированной водой, т. к. она вызывает набухание тканей. Объем фиксирующей жидкости должен в 4-5 раз превышать объема взятого патматериала.

Применение цитологических исследований в лабораториях. Клиническая цитология представлена либо эксфолиативной цитологией:

исследование жидкостей – экссудаты, промывные воды; выделений – мокрота, моча; мазков из шейки матки, с поверхности опухоли, либо пункционной – когда материал для исследования получают посредством пункции опухолевых образований тонкой иглой, пункции под контролем ультразвука, рентгена, компьютерной томографии.

Значительную долю исследований в современной клинической цитологии составляют исследования мазков с кусочков, полученных при трепанобиопсии, мазков-отпечатков с операционного и биопсийного материала, мазков щеточкой и соскобов при эндоскопических исследованиях. эндоскопического обследования при любой локализации патологического процесса.

К основным иммунологическим исследованиям относятся:

1. Определение группы крови по системе АВ0 и системе резус-фактора. Для анализа группы крови по системе АВ0, Rh-фактора, а также системы Келл применяется метод с использованием моноклональных антител (целиклонов) и стандартных эритроцитов (перекрестный метод), а также метод агглютинации в геле с помощью гелевых карт Grifols DG Gel ABO/Rh+Kell.

2. Определение резус-фактора. **Резус-фактор крови** – это белок находящийся на поверхности эритроцитов. Если этот белок присутствует, то резус-фактор является положительным, и, соответственно, если его нет, то отрицательным. По данным статистики около 85% людей имеют резус-фактор. Оставшимся 15% отсутствие этого показателя в крови обычно не приносит больших хлопот – опасность может грозить лишь резус-отрицательным беременным женщинам. Ведь если в этом случае у будущего отца резус положительный, то тогда велика вероятность возникновения резус-конфликта. Это состояние может развиваться, если малыш наследует положительный резус-фактор отца. В этом случае организм будущей мамы воспринимает плод как нечто враждебное и чужеродное, и начинает защищаться, выделяя антитела, несущие в себе серьёзную угрозу ребёнку. Это может привести к гибели плода и выкидышу, или к серьёзным аномалиям развития.

Молекулярная биология возникла как наука в 30х годах двадцатого столетия. С тех пор эта наука расширяется, захватывая приграничные области между химией, физикой и биологией. Первоначально молекулярная биология развивалась как биохимия нуклеиновых кислот. В дальнейшем молекулярная биология стала изучать путь передачи наследственной информации и биологического синтеза белковых структур. Сейчас область молекулярной биологии покрывает множество смежных наук, таких как биоинформатика, геномика и т.д.

Методы молекулярной биологии

Методы молекулярной биологии делятся на две большие группы. Первая группа занимается исследованием структуры и функции белковых молекул. К этим методам относятся генетические методы модификации первичной структуры белка, всевозможные методы определения наличия белка, а также его функциональной активности, в том числе и ферментативной активности; Ко второй группе относятся методы выделения и очистки белков, а также методы определения пространственных структур белковых молекул, таких как ЯМР и белковая кристаллография.

Среди методов работы с генами и нуклеиновыми кислотами в наборе молекулярной биологии можно отметить экспрессию генов, полимерно-цепную реакцию, различные виды блоттинга генов, а также методики по определению последовательностей ДНК.

Необходимость быстро, с максимальной точностью, в «полевых» условиях провести исследования, дало толчок к появлению экспресс-тестов. В первую очередь это было связано с появлением ИХА-тестов. В основе иммунохроматографического анализа лежит классическая реакция "антиген-антитело" с образованием иммунных комплексов, которые можно визуально обнаружить на тест-полоске. Принцип действия состоит в том, что при погружении тест полоски в биологическую жидкость, она начинает мигрировать вдольполоски по принципу тонкослойной хроматографии. Вместе с ней движутся нанесенные на нижнюю часть тест-полоски меченые

специфические антитела, которые аффинно (прочно и родственно) связываются с анализируемым веществом. К достоинствам Иммунохроматографического анализа можно отнести, в первую очередь, быстроту (5-10 минут) и удобство для постановки анализа.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Иммуноферментный анализ (ELISA) — лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных соединений, макромолекул, вирусов и пр., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием фермента в качестве метки. Иммуноферментный анализ - наиболее надежный и высокочувствительный метод, применяемый для качественной и количественной оценки антител и антигенов. Его отличает простота проведения реакции, возможность инструментального учета и автоматизации всех ее этапов. Внедрение в лабораторную практику иммуноферментного анализа позволило значительно расширить возможности диагностики инфекционных заболеваний, аутоиммунных и гормональных нарушений.

БЕСПРИБОРНЫЕ ИФА тест-системы для ветеринарии сочетают в себе все достоинства классического иммуноферментного анализа, такие как надёжность, высокочувствительность и специфичность с технической простотой и быстротой.

Хроматографические методы незаменимы в контроле качества пищевых продуктов. Пищевую ценность продуктов определяют, анализируя аминокислотный состав белков, изомерный состав жирных кислот и глицеридов в жирах, углеводы, органические кислоты и витамины. Для оценки безопасности продуктов в них выявляют пищевые добавки (консерванты, антиоксиданты, подслащивающие вещества, красители и др.), определяют свежесть продуктов, устанавливают ранние стадии порчи и допустимые сроки хранения. В пищевых продуктах методами хроматографии можно обнаружить такие загрязняющие вещества, как пестициды, нитрозамины, микотоксины (афлатоксины, охратоксин А, зеараленон и др.), полиядерные ароматические

соединения, биогенные амины, нитраты и др. В мясных продуктах определяют анаболические стероиды, гормоны и другие типы фармацевтических препаратов, злоупотребление которыми характерно для интенсивного животноводства.

Токсикологическое исследование проводится по многим причинам. Обычная задача — подтверждение или исключение контакта с токсичным веществом, предполагаемого по данным опроса и физикального исследования. Результат лабораторного анализа является наиболее надежным основанием для диагноза и часто дает возможность отказаться от других дополнительных исследований. Более чем в половине случаев токсикологическое тестирование позволяет существенно уточнить диагноз. Иногда диагноз ставится в основном по лабораторным данным, особенно в случаях отравления веществами, токсическое действие которых проявляется не сразу, или при отравлении сразу несколькими веществами, когда разные симптомы накладываются один на другой.

Безвредность — один из самых важных аспектов качества продуктов питания человека и животных, а также пищевых компонентов и добавок. Объективно оценить пищевые продукты, являющиеся сложными природными объектами, с помощью аналитических методов в повседневной практике невозможно.

Иммунологические методы, используемые в экспериментальных исследованиях и клинической практике, достаточно разнообразны. С их помощью можно определять иммунный статус животных в норме и при патологии, осуществлять контроль за восстановлением иммунологической компетентности организма в процессе лечения методами иммунотерапии. Для определения первичного или вторичного иммунодефицита необходимо использовать лабораторные методы, которые позволяют определить количество и функциональную активность Т-, В-клеток и нейтрофилов. Кроме того, проводится количественное определение компонентов комплемента в сыворотке крови для установления их роли в иммунной дисфункции.

РИД - радиальная иммунодиффузия;
РГЗТ – реакция гиперчувствительности замедленного типа;
ФГА - фитогемагглютинин;
ЕАС-розетки -метод комплементарного розеткообразования;
ИФМ -метод иммунофлюоресцентной микроскопии;
РБТЛ -реакция бласттрансформации лимфоцитов;
МГБ - методгемолитических бляшек;
ТБТ - турбидиметрический тест;
РЛА - реакция латекс-агглютинации;
ИФА - иммуноферментный метод.

Для определения количества или функциональной активности Т-клеток обычно используется следующие лабораторные тесты:

- дифференциальный подсчет количества лейкоцитов (лейкограмма);
- реакция гиперчувствительности замедленного типа (кожный тест);
- спонтанное розеткообразование лимфоцитов с эритроцитами барана;
- реакция бласттрансформации лимфоцитов.

Лимфопения, обнаруженная с помощью обычной лейкограммы, часто отражает уменьшение числа Т-клеток, поскольку у большинства видов животных Т-клетки составляют около 75% лимфоцитов крови. Поэтому, уменьшение общего количества лимфоцитов обычно связано с уменьшением Т-клеток.

Реакция гиперчувствительности замедленного типа, определяемая с помощью кожного теста, используется у некоторых видов животных для оценки функциональной активности Т-клеток. Например, когда жеребят с комбинированным иммунодефицитом вводят внутрикожно фитогемагглютинин, то у них не развивается положительная реакция. У собак наблюдается слабая реакция гиперчувствительности замедленного типа на введение большинства антигенов и митогенов, поэтому использование этого метода для оценки Т-клеточного дефицита у этого вида требует осторожной интерпретации результатов.

Способность лимфоцитов *in vitro* отвечать на некоторые митогены клеточным делением и пролиферацией лежит в основе реакции бласттрансформации, используемой для оценки функций Т-клеток. В этом методе наиболее часто используются такие митогены как конкавалин А и фитогемагглютинин. Использование В-клеточного митогена позволяет оценивать функцию В-клеток. Различные виды животных отличаются по чувствительности к митогенам, поэтому необходим тщательный выбор митогена и схемы его применения.

Иммуноферментный анализ (сокращённо **ИФА**, англ. *enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA*) — лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных низкомолекулярных соединений, макромолекул, вирусов и пр., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело. Выявление образовавшегося комплекса проводят с использованием фермента в качестве метки для регистрации сигнала. Теоретические основы ИФА опираются на современную иммунохимию и химическую энзимологию, знание физико-химических закономерностей реакции антиген-антитело, а также на основные принципы аналитической химии.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что определяется при гистологическом исследовании?
2. Что определяется при микроскопическом исследовании?
3. Что определяется при цитологическом исследовании?
4. Что определяется при изосерологическом исследовании?
5. Перечислите методы молекулярной биологии.

3. ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖИМОГО РУБЦА И ЖЕЛУДКА

3.1 Исследование содержимого рубца

Содержимое рубца получают с помощью зонда в количестве 100 мл через 2-2,5 часа после кормления. Исследуя содержимое рубца, необходимо учитывать состав рациона, время взятия проб после кормления и технику зондирования. При кормлении грубоволокнистыми кормами состав

содержимого рубца относительно постоянный. При скармливании животным большого количества легкоусвояемых углеводов происходит интенсивное образование ЛЖК, появляется молочная кислота, уменьшается количество грамотрицательных бактерий, увеличивается количество грамположительных бактерий. В первые 2-3 часа после приема корма происходит активный гидролиз, что вызывает возрастание количества ЛЖК, аммиака, хлора, калия, затем их уменьшение. Поэтому время взятия материала для исследования должно быть одинаковое. Зондирование вызывает усиленную саливацию, поэтому первые 200мл пробы для анализов использовать не рекомендуется, так как слюна имеет щелочную реакцию, что может вызвать изменения рН.

У здоровых животных содержимое рубца имеет следующие свойства: цвет после скармливания свежей травы светло- или темно-зеленый, сена – бурый или буро-зеленый, отрубей, овса, кукурузы - молочно-белый; запах кисловато-пряной; консистенция кашицеобразная или полужидкая. Реакция нейтральная, слабокислая или слабощелочная. При микроскопическом исследовании содержимого рубца обращают внимание на количество и подвижность инфузорий. У коров, содержащихся на полноценном рационе количество инфузорий 200-500 тыс. в 1 мл рубцового содержимого.

Активность рубцовой микрофлоры устанавливают пробой с метиленовым синим. При нормальной активности микрофлоры 1 мл 0,03%-ного раствора метиленового синего, добавленный к 20 мл рубцового содержимого, обесцвечивается в течение 3 минут. При понижении активности время обесцвечивания увеличивается.

При химическом исследовании определяют кислотность содержимого, устанавливают соотношение кислот. Оптимальное соотношение кислот: 65% уксусной, 20% пропионовой, 15% масляной.

У больных животных наблюдают следующие изменения при исследовании содержимого рубца. Примесь крови придает содержимому рубца кофейный или коричнево-бурый цвет, при застойных явлениях или гниении содержимого рубца – цвет темно-коричневый или темно-зеленый.

при остром ацидозе – молочно-серый, а при хроническом – молочно-коричневый. При застойных явлениях запах кислый или гнилостный. Водянистая консистенция отмечается при остром ацидозе, вязкая – при хроническом ацидозе. Могут быть примеси – слизь, гной, кровь, эпителиальные клетки. При заболеваниях преджелудков, сопровождающихся интенсивными бродильными процессами рН смещается в кислую сторону. При болезнях преджелудков и погрешностях в кормлении количество инфузорий уменьшается и снижается их активность.

3.2 Исследование желудочного содержимого

Зондированием для клинического исследования можно получить чистый желудочный сок, содержимое желудка в виде пищевой массы, содержимое двенадцатиперстной кишки.

Желудочный сок лошади представляет из себя мутноватую, слегка опалесцирующую жидкость водянистой или слегка слизистой консистенции, бесцветную или с различными оттенками желтого, зеленого или бурого цвета, с характерным запахом и вкусом. Иногда к секрету желез желудка примешиваются слизь, слюна или дуоденальный сок. Примесь слюны и слизи у здоровых животных очень невелика и почти не влияет на свойства сока. Влияние на него оказывает смесь секретов поджелудочной железы, печени, желез кишечника.

Количество и состав желудочного сока колеблются в очень больших пределах. Это обусловлено типом нервной деятельности животного, особенностями секреторной функции желез желудка, состоянием его слизистой оболочки, частотой и количеством забрасывания в желудок дуоденального содержимого.

В состав физического исследования содержимого желудка и желудочного сока входит определение его количества, цвета, запаха, консистенции, удельного веса, посторонних примесей.

Количество собранного содержимого может колебаться от нескольких миллилитров до 10 и более литров. У лошадей при фракционном исследовании удается получить 5-8 литров желудочного сока. При пилороспазме общее количество извлеченного содержимого желудка достигает 20-40 литров. При анацидозном гастрите, т.е. гастрите с нулевой кислотностью даже не удается собрать достаточно материала для исследования.

Цвет содержимого желудка зависит от принятого корма, состояния слизистой оболочки, примеси желчи и крови. Цвет определяют сразу же по получении содержимого и лучше всего при естественном освещении и в толстом слое жидкости. Желтый и зеленоватый оттенки чаще являются следствием примеси желчи. Чистое дуоденальное содержимое имеет желтый цвет. Примесь крови при случайных повреждениях зондом видна в виде небольших прожилок. При желудочных кровоизлияниях (язвы, разрыв сосуда) содержимое желудка приобретает коричневый цвет, при тромбоэмболических коликах, инвагинациях кишечника – темно-бурый, кофейный цвет.

Запах содержимого желудка здоровых лошадей кисловатый, иногда кислый или резко кислый. При пастбищном содержании, а также после скармливания клевера, оно имеет запах свежего силоса. При анацидозном гастрите содержимое желудка характеризуется острым неприятным запахом. При разложении содержимого запах становится гнилостным.

Консистенция чистого желудочного сока жидкая, водянистая, с небольшой примесью слизи, которая бывает экзогенная и эндогенная. Экзогенная слизь, т.е. слизь из ротовой полости, грубопенистая, в ней могут быть пузырьки воздуха и частицы корма. Она плавает на поверхности сока в виде хлопьев и островков и легко может быть отделена. Эндогенная слизь или слизь желудочного происхождения находится во взвешенном состоянии в виде нитей или опускается на дно. Большое количество эндогенной слизи наблюдается при острых и хронических катаральных гастритах. При небольшом содержании в желудочном соке дуоденального сока он становится

более вязким, тягучим. Чистый дуоденальный сок имеет студенистую или желеобразную консистенцию.

В химическое исследование желудочного содержимого входит определение его кислотности. Кислая реакция содержимого желудка объясняется присутствием в нем свободной соляной кислоты, связанной соляной кислоты, следов органических кислот (молочной, масляной, уксусной), кислых фосфатов. Соляная кислота, вступая в реакцию с белками содержимого желудка образует нестойкие кислые соединения, которые называют **связанной соляной кислотой**. Избыток кислоты, остающийся после связывания с белками, называется **свободной соляной кислотой**. Кроме того, определяется **общая кислотность** – в реакции участвуют все кислореагирующие соединения желудочного содержимого; **дефицит соляной кислоты** – то количество соляной кислоты, которое нужно добавить к желудочному соку, чтобы получить ясную реакцию на соляную кислоту.

Качественную сторону реакции учитывают посредством лакмусовой бумаги. Количественную характеристику кислотности дает титрование 0,1 N раствором едкого натрия при индикаторе 1%-ном спиртовом растворе фенолфталеина. Результаты высчитываются по количеству титрованного раствора, израсходованного для нейтрализации 100 мл содержимого желудка.

Нарушения секреторной функции желудка могут выразиться в повышении кислотности – **гиперацидоз**, понижении кислотности – **гипоацидоз**, полном отсутствии соляной кислоты в желудочном соке – **анацидоз**, поступлении в желудок жидкости не содержащей ни ферментов, ни соляной кислоты – **желудочная ахилия**. Усиление секреторной функции желудка называется гиперсекрецией, ослабление – гипосекрецией.

У здоровых лошадей кислотность желудочного содержимого в порции натошак колеблется в пределах:

свободная соляная кислота – 0-6 ед.

общая кислотность – 4-9 ед.

связанная соляная кислота – 2-8 ед. титра

Через 1 час 25 мин кислотность желудочного содержимого колеблется в пределах:

свободная соляная кислота – 5-9 ед.

общая кислотность – 13-20 ед.

связанная соляная кислота – 5-12 ед. титра

Через 2 часа 25 мин все показатели приходят к исходным величинам.

У лошади установлены 4 формы патологической возбудимости желез.

1. Гиперацидная – характеризуется высокими показателями кислотности натощак и после дачи пробного раздражителя. Начиная с первой порции и кончая 6 показателя кислотности повышаются. Показатель общей кислотности достигает 90 ед.

2. Астеническая – общая кислотность в порции натощак выше нормальной (20-40 ед.), высокий показатель и свободной соляной кислоты. К моменту первого извлечения желудочного содержимого после дачи пробного раздражителя показатель общей кислотности возрастает до 70-80 ед., затем резко снижается и становится даже ниже первоначальной.

3. Инертная – показатель общей кислотности желудочного содержимого натощак в пределах нормы, свободная соляная кислота отсутствует или 2-3 ед. Пробный раздражитель долго не вызывает ответного повышения кислотности. Она начинает возрастать в 4,5,6 порциях.

4. Субацидная – характеризуется отсутствием ответной реакции на введение пробного раздражителя. Кислотность желудочного содержимого колеблется на одном уровне как натощак, так и после дачи пробного раздражителя.

Кроме кислотности в желудочном содержимом определяют наличие органических кислот (молочная, масляная, уксусная), которые образуются при брожении содержимого желудка в отсутствие свободной соляной кислоты; пепсина, билирубина, пигментов крови, желудочный лейкопедез. Под ним понимают вымывание лейкоцитов со слизистой желудка желудочным соком. Взвешенные в желудочном соке лейкоциты извлекаются при зондировании и легко обнаруживаются при микроскопии. У здоровых лошадей в порциях

первого часа их 100-300 (в 1 мл), второго – 100-200. При гастритах число лейкоцитов возрастает в 4-10 раз.

Исследование желудочного содержимого дает сведения, которые характерны для определенного заболевания.

При пилороспазме после введения зонда удаляется большое количество газов, которые горят синеватым пульсирующим пламенем. Вслед за газами удаляется жидкое содержимое в количестве 10-40 литров. Содержимое имеет серо- белый цвет, резкий кислый запах, жидкую консистенцию, легко расслаивается, давая большой осадок. Свободная кислота отсутствует, дефицит соляной кислоты 30-50 ед., общая кислотность 60-200 ед. Проба на кровь положительная, желчные пигменты отсутствуют, обнаруживается молочная кислота.

При закупорках тонкого отдела кишечника (илеусах) в желудок из двенадцатиперстной кишки забрасывается так много жидкости, что быстро развивается вторичное расширение желудка. При зондировании выделяется 5-15 литров жидкого содержимого бурого-желтого, зеленоватого, темно-землистого цвета. Жидкость имеет тухлый запах. Общая кислотность высокая, но ниже 60 ед., свободная соляная кислота отсутствует, дефицит соляной кислоты часто выше общей кислотности. Обнаруживают молочную кислоту, желчные пигменты, проба на кровь отрицательная. После удаления содержимого желудка состояние животного улучшается, но ненадолго, так как жидкость вновь заполняет желудок.

При илеусах большой ободочной и слепой кишок скопление жидкости в желудке наблюдается только когда болезнь затягивается до 6-12 часов.

При тромбозах кишечника из желудка извлекают 10-15 литров жидкого содержимого бурого, желтого или зеленоватого цвета, с большим количеством слизи неприятного запаха. Общая кислотность сначала 40-50 ед., потом 14-15 ед. Дефицит соляной кислоты 10-70 ед. Обнаруживается желчь.

При энтералгии количество желудочного содержимого небольшое, содержит примесь корма. Общая кислотность нормальная. Дефицит соляной кислоты 30-40ед.

Вопросы для самоконтроля:

1. Как получают содержимое рубца?
2. Как получают содержимое желудка?
3. Что определяют при исследовании содержимого рубца?
4. Какие показатели определяют при физическом исследовании желудочного содержимого?
5. Какие показатели определяют при химическом исследовании желудочного содержимого?

4. ИССЛЕДОВАНИЕ КАЛА

4.1 Виды исследования кала

Анализ кала включает макроскопическое, микроскопическое, химическое, бактериологическое исследование.

При макроскопическом исследовании отмечают количество кала, форму, консистенцию, цвет, запах, наличие посторонних примесей.

Количество кала зависит в основном от объема и качества потребленного корма. Лошадь выделяет за сутки 15-20 кг кала, во время одной дефекации выделяется 1-2 кг. У крупного рогатого скота может выделяться от 15 до 50 кг при обильном кормлении, овцы и козы выделяют 1-3 кг кала, собаки – 200-500 г. Количество кала увеличивается при понижении всасывающей способности кишечной стенки и при воспалительной экссудации в просвет кишечника., при очень быстром прохождении пищевой массы через кишечник вследствие его усиленной перистальтики. При длительном запоре и копростазе количество кала уменьшается вследствие усиления процесса всасывания в кишечника.

Консистенция и форма кала зависят от вида животных, возраста, характера корма, содержания в кале воды, клетчатки, газов, продуктов воспаления. У здоровых лошадей каловые массы содержат до 75% воды, у крупного рогатого скота – около 85%, у коз и овец – до 55%. Содержание воды в кале увеличивается при усилении перистальтики. При запорах содержание воды в кале, наоборот, уменьшается.

У здорового взрослого крупного рогатого скота кал кашицеобразной консистенции, при падении на землю принимает вид «волнистой лепешки». У новорожденных телят кал представляет собой густую вязкую массу, у телят до двухнедельного возраста он приобретает мазевидную или кашицеобразную консистенцию. У лошадей кал представляет собой плотные продолговатые образования, которые называются **скибалы**. У мелкого рогатого скота кал имеет овальную форму, у свиней и собак – цилиндрическую.

Цвет кала у здоровых животных зависит от наличия желчных пигментов и от характера корма. У травоядных животных при пастбищном содержании фекалии зеленоватого цвета, при кормлении грубыми кормами без примеси концентратов кал имеет желто-бурый цвет, при кормлении зерновыми кормами – серый. У свиней кал желто-бурого цвета, при кормлении зелеными кормами – зеленоватого цвета. У плотоядных кал имеет темно-коричневый цвет. При резком угнетении секреторной функции печени кал приобретает сероватый цвет. При поносах кал имеет желтую окраску. При воспалениях кишечника кал приобретает землистую окраску. Цвет кала изменяет и примесь крови. при кровотечениях в толстом отделе кишечника каловые массы приобретают вишнево-красный цвет, так как кровь не успевает свернуться. При кровотечениях в тонком отделе кишечника кал приобретает коричневый цвет, при желудочном кровотечении – почти черный. Кроме того, цвет кала изменяют лекарственные вещества: висмут – в черный, железо - в зелено-черный, осарсол – в зеленый, сантонин – в темно-коричневый.

Запах кала у травоядных кисловатый, у свиней и у плотоядных - зловонный. При протекании в кишечнике усиленных гнилостных процессов

кал приобретает гнилостный запах, при усилении бродильных процессов – резко кислый. Ослабевает запах кала при запорах.

Кроме этого, обращают внимание на остатки непереваренного корма – зерно, непереваримая клетчатка.

В качестве примесей в кале обнаруживаются: у лошади – кишечные камни, деревянные стебли растений, кусочки дерева, песок, землю, мелкие камешки; у крупного рогатого скота – металлические предметы, тряпки; у овец – шерсть; у собак – пробки, монеты, кусочки дерева и костей. Примесь крови отмечают при травматических повреждениях стенок желудка и кишечника, язве желудка, тромбэмболических коликах, инвагинации кишечника. Обильные кишечные кровотечения наблюдаются при сибирской язве, кокцидиозе, геморрагической септицемии крупного рогатого скота, чуме и лептоспирозе собак. Примесь пузырьков газа придает фекалиям пенистый вид. Примесь гноя обнаруживается в виде сероватых прожилок. При мытье у лошадей наблюдаются обильные выделения гноя. Кроме того, у здоровых животных в кале есть небольшая примесь слизи, которая равномерно покрывает поверхность фекалий. Чем реже дефекация, тем толще слой слизи. Поэтому, при заболеваниях, связанных с запорами, кал покрывает очень большой слой слизи. При илеусе (сужении просвета кишечника) содержимое прямой кишки состоит из одной слизи, скапливающейся в большом количестве. В ее состав входят лейкоциты и отслоившиеся эпителиальные клетки.

Для обнаружения патологических элементов, появляющихся при неполном переваривании корма, применяется микроскопическое исследование нативных препаратов. В неокрашенном нативном препарате определяют количество кормовых остатков. Характер кормовых остатков зависит от отдельных составных частей корма, функционального состояния органов пищеварения, от количества детрита. **Детритом** называется аморфная масса, образующаяся при распаде кормов, эпителия, лейкоцитов. Чем полнее происходит переваривание, тем больше в кале содержится детрита. На фоне

детрита в неокрашенном нативном препарате видны остальные элементы кала – кормовые остатки, слизь, форменные элементы, клетки эпителия. Остатками растительного корма являются клетчатка и крахмал. Существует два вида клетчатки: 1) неперевариваемая клетчатка – под микроскопом имеет резкие очертания, толстые оболочки клеток, толстые межклеточные перегородки; 2) перевариваемая клетчатка – имеет нежное строение, тонкую оболочку, у здоровых животных она отсутствует.

Крахмал распознается в препарате, приготовленном с раствором Люголя. При нормальном пищеварении крахмал в кале отсутствует. При заболеваниях тонкого отдела кишечника, при недостаточности поджелудочной железы крахмал обнаруживают в виде зерен различной окраски от сине-черного до красно-бурого, в зависимости от того, в какой стадии расщепления он находится.

В кале можно обнаружить и остатки мясного корма. В норме мышечные волокна перевариваются и имеют вид желто-бурых глыбок без видимой исчерченности. При нарушении ферментативного переваривания видны мышечные волокна с продольной и поперечной исчерченностью и волокнистая соединительная ткань в виде полупрозрачных волокнистых тяжей.

Нейтральный жир и продукты его расщепления определяются в нативных препаратах, окрашенных реактивом Саатгофа, в котором присутствует краситель судан III. При нормальном пищеварении жир усваивается почти полностью. При нарушении секреции поджелудочной железы увеличивается содержание нейтральных жиров, а при недостаточном количестве желчи наблюдается увеличение количества жирных кислот и мыл. В нативном препарате жир виден в различной форме: в виде капель, пучков игл, отдельных игл и комочков. Нейтральный жир и свободные жирные кислоты имеют форму глыбок и капель, а соли жирных кислот или мыла – форму кристаллов. Сразу же после окрашивания определяют нейтральный жир. Он имеет вид оранжево-красных капель разного размера с гладкими краями. Чтобы определить, какие

еще формы жира находятся в кале, препарат нагревают. Сразу же после нагревания проводят количественную оценку жировых элементов, а после остывания препарата проводят их классификацию. Те капли, которые в остывшем препарате не изменяют своей формы, относятся к нейтральным жирам, а те капли, которые после охлаждения сморщиваются и становятся бугристыми, а также остроконечные бесцветные кристаллы относятся к жирным кислотам и мылам. Кристаллы жирных кислот имеют форму тонких игл, заостренных с обеих концов. Они могут группироваться, образуя небольшие пучки, и могут располагаться радиально, окружая капли жира. Мыла обнаруживаются в виде кристаллов и желто-коричневых глыбок, не окрашивающихся суданом III до нагревания препарата. Кристаллы мыл короткие, по форме напоминают вытянутые маленькие ромбики.

У здоровых телят в возрасте от 2 до 10 дней жировые элементы в теплом препарате представлены единичными жировыми каплями, до 10 в поле зрения, нейтральный жир отсутствует или имеется в небольшом количестве. Жирные кислоты и мыла также имеются в небольшом количестве. У здоровых поросят до 10-дневного возраста жировые элементы в теплом препарате обнаруживаются по 1-4 капли не в каждом поле зрения микроскопа.. Нейтральный жир отсутствует или имеется в небольшом количестве. У телят и поросят старшего возраста количество жировых элементов заметно меньше.

Увеличение содержания нейтральных жиров, жирных кислот и мыл указывает на неправильное переваривание жиров (**стеаторея**), что может быть у недоношенного молодняка, при бронхопневмонии, диспепсии, при заболеваниях печени и желчных путей, при панкреатитах, гипоплазии поджелудочной железы, при патологии лимфоузлов тонкого кишечника, недостаточности надпочечников, а также при приеме с кормом больших количеств калия и магния, которые образуют в кишечнике нерастворимые мыла жирных кислот.

Микроскопически, кроме этого, можно обнаружить клетки мышечного эпителия, в большом количестве они обнаруживаются при воспалении

слизистой оболочки кишечника. О воспалительном процессе в кишечнике свидетельствует и большое скопление лейкоцитов. Если в кале обнаруживается большое количество эритроцитов, это говорит о наличии язв, кровотечений, воспалений.

Из кристаллических образований могут встречаться: кристаллы трипельфосфатов, напоминающие по форме «гробовые крышки» - при усилении гнилостных процессов в кишечнике; щавелевоуксусный кальций в виде октаэдров, похожих на почтовые конверты - встречается при понижении кислотности желудочного сока; кристаллы билирубина в виде очень мелких ромбических или игольчатых образований или зерен оранжевого цвета – при усиленной перистальтике кишечника, а в норме у новорожденных и молодняка первых дней жизни; кристаллы гематоидина игольчатой или ромбической формы красновато-коричневого цвета встречаются в кале после кровотечений.

При химическом исследовании кала проводят определение: реакции кала, крови, билирубина, реакции на белковую экссудацию.

У здоровых травоядных реакция нейтральная или слабокислая, у плотоядных – нейтральная или слабощелочная. при активизации бродильной микрофлоры содержание углекислоты и органических кислот увеличивается реакция кала становится кислой. При активизации гнилостной микрофлоры образуется аммиак и реакция становится щелочной.

Примесь крови в фекалиях бывает двух видов: экзогенная – от приема внутрь содержащего гемоглобин корма или от попадания крови из носоглотки, рта, легких; эндогенная – происходящая из патологически измененных стенок кишечника или желудка. Когда кровь не улавливается невооруженным глазом, а определяется биохимическим путем, она называется «скрытой» кровь в кале определяется бензидиновой пробой.

К желчным пигментам относятся билирубин, уробилин, уробилиноген. У здорового животного в кале билирубина нет, он появляется при ускоренном прохождении содержимого через кишечник при энтеритах, дисбактериозах, у

здорового молодняка билирубин может быть в первые дни жизни. Количество билирубина может значительно снизиться при уменьшении поступления желчи в 12-перстную кишку и увеличиться при гиперпродукции билирубина.

Реакция на белковую экссудацию указывает на наличие сывороточного белка при воспалительных процессах в кишечнике и на содержание муцина.

При бактериоскопическом исследовании определяют процентное соотношение между грамположительной и грамотрицательной микрофлорой в мазках, окрашенных по Граму. У здоровых телят и поросят + - 60-90%,

при простой диспепсии - 20-50%,

при токсической - 10-20%

4.2 Копрологическая диагностика

При нарушении функции различных отделов желудочно-кишечного тракта появляются определенные изменения кала.

При недостаточности жевания в кале присутствует большое количество непереваренных частиц корма.

При недостаточности желудочного пищеварения в кале у травоядных присутствует перевариваемая клетчатка, у плотоядных – соединительная и мышечная ткань.

При недостаточном желчеотделении кал обесцвечен, консистенция его мазевидная, запах зловонный. В кале большое количество жирных кислот.

При недостаточности поджелудочной железы кал мазевидной консистенции, запах гнилостный, реакция щелочная. В кале большое количество нейтрального жира.

При недостаточности переваривания в тонком отделе кишечника консистенция кала жидкая, цвет желтый, запах слабогнилостный, реакция слабощелочная. В кале в большом количестве обнаруживается нейтральный жир, жирные кислоты и мыла.

При недостаточности переваривания в толстом кишечнике кал кашицеобразный, часто пенистый, цвет кала желтый, реакция его кислая, нейтральный жир отсутствует, в кале много переваримой клетчатки и крахмала.

При воспалении кишечника в кале примесь слизи, гноя, крови, большое количество лейкоцитов. Часто выявляется «скрытая кровь».

Фекалии в этих случаях приобретают определенный вид.

«Мыльные фекалии» - серебристые, блестящие, мягкие. На их поверхности обнаруживаются сгустки слизи. Кал имеет щелочную реакцию, аммиачный или гнилостный запах. Такие фекалии наблюдаются при диспепсии поросят.

Ахолические фекалии – обесцвеченные, жирные, гнилостные, имеют щелочную реакцию, бывают вследствие отсутствия в кале стеркобилина при обтурационной желтухе.

Жирные фекалии – имеют беловатый цвет, ломкие, с кислым запахом, содержат много слизи и выделяются небольшими порциями., наблюдаются при недостаточной секреции желчи, снижении резорбции в кишечнике.

Гнилостные фекалии – имеют грязно-серый цвет, кашицеобразную консистенцию, щелочную реакцию. Наблюдаются при скармливании большого количества белковых кормов при одновременном недостатке углеводов.

Фекалии при голодании – темно-коричневого или темно-зеленого цвета вследствие присутствия большого количества стеркобилина, имеют неприятный запах, щелочную реакцию, выделяются небольшими порциями.

Плотные фекалии – появляются при запорах, имеют гнилостный запах, щелочную реакцию.

Жидкие фекалии – бывают слизистые или серозные. Слизистые свернувшиеся фекалии содержат слизь в виде нитей, хлопьев, имеют зеленоватый, желто-зеленый цвет. Серозные или водянистые фекалии бывают

значительно чаще, имеют зеленый или светло-желтый цвет, бывают похожи на рисовый отвар.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что определяют при физическом исследовании кала?
2. Что определяют при химическом исследовании кала?
3. Что определяют при микроскопическом исследовании кала?
4. Методика приготовления нативных препаратов.
5. Перечислите копрологические синдромы.

5. ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

5.1 Способы получения и хранения мочи

Мочу рекомендуется исследовать у каждого больного животного, так как в ней могут быть обнаружены изменения, свойственные патологическому состоянию при отсутствии выраженных клинических симптомов. Точность исследований зависит от того, каким способом, в каком состоянии и когда взята моча. Она должна быть чистой, без посторонних примесей. Чем меньше интервал времени между взятием мочи и исследованием, тем точнее результаты анализа.

Для лабораторного исследования собирают первую утреннюю порцию мочи, так как она накапливается ночью, когда животное меньше всего подвержено воздействию внешних факторов, влияющих на качественный и количественный состав мочи.

Способы взятия мочи:

1. Собираение мочи в заранее подготовленную посуду при естественном мочеиспускании. При получении мочи таким методом часто приходится выжидать момент мочеиспускания. При этом необходимо осторожно, не

пугая животное, подставлять чистый сосуд, в который улавливается испускаемая моча.

2. Собираение мочи путем массажа мочевого пузыря у мелких животных через брюшную стенку, у крупных – рукой, введенной в прямую кишку.

3. Собираение мочи в мочеприемники. Применяя этот метод, можно определить суточное количество мочи.

4. Собираение мочи методом катетеризации.

5. Собираение мочи в клетке. Этот метод используется при получении мочи от мелких животных, которых трудно и опасно фиксировать. В таких клетках в качестве мочеприемника используется металлическая сетка пола, ниже которой на 3-5 см располагается дно с наклоном посередине. На середине дна делается конусообразное отверстие, под него подставляется чистый сосуд.

6. У коров и кобыл мочу можно получить путем поглаживания половых губ.

7. У быков мочу можно получить, приложив к отверстию препуция на 30-40 с вату, смоченную теплой водой.

8. У овец и коз мочу можно получить, рефлекторно воздействуя на мочевой пузырь путем создания временного апноэ на 15-20 мин.

В теплое время года моча легко подвергается брожению, в ней растворяются форменные элементы и изменяется форменный осадок солей. Если нельзя немедленно исследовать мочу, ее хранят в закрытой посуде в холодильнике или консервируют толуолом (покрывают тонким слоем поверхность мочи), тимолом (11-2 кристаллика на 200-250 мл мочи), хлороформом (1-2 капли). Самый нейтральный консерватор – толуол, так как с тимолом трудно обнаружить белок, а хлороформ растворяет жиры и затрудняет определение сахара.

5.2 Исследование физических свойств мочи

При физическом исследовании мочи определяют ее количество, цвет, прозрачность, консистенцию, запах, относительную плотность.

Здоровые животные за сутки выделяют литров мочи:

крупный рогатый скот	6-12
лошади	3-10
мелкий рогатый скот	0,5-1,5
свиньи	2-4
собаки	0,04-2
кошки	0,1-0,2

Суточное количество мочи находится в прямой зависимости от приема воды, количества и состава корма, температуры внешней среды, физической нагрузки. Количество мочи следует измерять у всех животных с нарушением функции почек, сердца, легких, кишечника, Увеличение диуреза при недостаточности функции сердца или при экссудативном плеврите говорит об улучшении патологического процесса и наоборот. У здоровых животных в обычных условиях с мочой выводится около 70% выпитой жидкости с преимущественным выделением мочи в дневное время.

Увеличение суточного количества выделяемой мочи называется **полиурия** и связано с усилением почечного кровотока. У больных животных полиурия наблюдается в период выздоровления после лихорадочных состояний, рассасывания отеков, экссудатов, транссудатов, при сахарном и несахарном диабете, циррозе почек, хронической недостаточности почек, нефросклерозе, у истощенных животных, при недостатке в рационе белка, солей.

Уменьшение суточного количества мочи называется **олигурия**. Она наблюдается у здоровых животных при недостатке питьевой воды, у больных – при сильном потении, лихорадке, рвоте, сердечной недостаточности, поносе, острой недостаточности почек, при отравлении ртутью, свинцом, мышьяком. Прекращение образования и выделения мочи называется **анурия**.

Цвет мочи зависит от вида животных, от количества растворенных в ней пигментов, от удельного веса мочи, а также красящих и лекарственных веществ, поступающих в организм. Цвет мочи определяют при естественном освещении на белом фоне, сразу же после ее получения. Моча темнеет при

хранении и на свету, особенно у лошади. Цвет мочи у здоровых лошадей от бледно- до буро-желтого, у жвачных – от светло-желтого до светло-коричневого, у свиней – светло-желтого, у собак – от светло- до интенсивно-желтого, у кошек – от желтого до желто-красного, у лисиц – от желтого до темно-желтого.

Бесцветной моча становится при диабетах, нефросклерозе, интенсивно-желтой – при лихорадке, гипергидрозе, от желто-зеленого до темно-коричневого – при увеличении в моче количества желчных пигментов, от темно-коричневого до кроваво-красного – при наличии крови в моче (**гематурия**). Красный цвет моча может приобретать при скармливании красной свеклы, красно-коричневый – при присутствии гемоглобина, черный – при присутствии метгемоглобина, темно-коричневый – при присутствии большого количества индикана. Белой моча может быть от примесей гноя при цистите, пиелонефрите. Молочно-белого цвета моча может быть при липурии у собак. Лекарственные вещества тоже окрашивают мочу: сантонин – в зеленовато-желтый цвет, метиленовая синь – в зеленовато-синий, деготь, фенол – от темно-зеленого до черного, карболовая кислота – от коричневого до черного, фенотиазин – в желтый.

Прозрачность мочи определяют, рассматривая ее в посуде из прозрачного стекла. Моча считается прозрачной, если через слой мочи толщиной в 5 см хорошо читается типографский текст. Свежевыделенная моча у всех здоровых сельскохозяйственных животных прозрачная и лишена осадка, отстоявшаяся моча через некоторое время мутнеет. Исключение – моча парнокопытных. У них она мутная из-за содержания одноосновной углекальциевой соли и фосфатов. Через несколько часов в моче образуется помутнение в виде облачка, состоящее из мукоида и щелочных фосфатов. Поэтому, важно установить, была ли моча мутная после выделения из уретры или она помутнела на воздухе. Моча с присутствием гноя все время остается мутной. Муть, вызванная присутствием жира, растворяется бензолом, эфиром или спиртом. Моча, содержащая много форменных элементов крови,

становится более прозрачной после добавления 10%-ного раствора едкого натрия. Муть от присутствия мочекислых солей исчезает при подогревании мочи или прибавления к ней щелочи.

Консистенция определяется путем переливания мочи из одного сосуда в другой. У всех домашних животных моча водянистая или жидкая, кроме однокопытных. У них она слизистая из-за содержания муцина и при переливании тянется нитями. Жидкая моча у лошадей бывает при полиурии. Вязкой или желеобразной моча становится при воспалении мочевых путей, при уменьшении диуреза.

Запах мочи у всех здоровых животных специфический для различных видов. Сила запаха зависит от концентрации мочи. Наиболее сильно запах выражен у кошек и свиней – острый и неприятный. Запах мочи собак напоминает запах чеснока или мясного отвара. Моча лишена запаха при полиурии. Запах ацетона наблюдается при ацетонемии и родильном парезе, аммиака – при аммиачном брожении в мочевом пузыре, трупный – при гнилостных процессах в мочевых путях, а также при разложении крови и гноя. Моча может приобретать запах скипидара, тимола, камфары, эфирных масел, т.е. лекарственных веществ, которые выводятся вместе с мочой, а также чеснока, лука, валерианы.

Относительная плотность или удельный вес определяется урометром и зависит от растворенных в воде веществ:

лошадь	1,025 – 1,055
крупный рогатый скот	1,015 – 1,050
свинья	1,015 – 1,025
мелкий рогатый скот	1,015 – 1,065
собака	1,020 – 1,050

Точные показания урометра отмечаются при температуре мочи 15°. Если температура мочи отличается от 15°, то на каждые 3° повышения или понижения температуры к показаниям урометра добавляют или высчитывают 0,001 величины установленной относительной плотности. Наибольшее

влияние на этот показатель оказывает концентрация в моче мочевины, а также количество введенной в организм и выведенной из организма жидкости помимо почек. Чем больше выделяется мочи, тем ниже ее удельный вес и наоборот. Исключением является сахарный диабет. При нем высокие и диурез и удельный вес. Если прием жидкости ограничен или организм теряет много жидкости, выделяется концентрированная моча в малом количестве и с большим удельным весом – при поносе, рвоте, при скоплении жидкости в плевральной и брюшной полости, при лихорадках, при нефрозах, у животных с повышенным белковым обменом. Понижается удельный вес после обильного введения жидкости в организм, при интерстициальном нефрите, пиелите, нервной полиурии, при ацетонемии.

5.3 Исследование химических свойств мочи

При химическом исследовании мочи определяют следующие показатели:

1. Реакция. У плотоядных моча кислая, у травоядных – щелочная, у всеядных в зависимости от характера корма – кислая или щелочная:

лошадь	7,1-8,7
крупный рогатый скот	7,7-8,7
мелкий рогатый скот	8,0-8,5
свиньи	6,5-7,8
плотоядные	5,7-7,0

Сдвиг реакции влево отмечается при катаральном воспалении желудочно-кишечного тракта, при заболеваниях, сопровождающихся лихорадкой и потерей аппетита, вправо – при катарах и язвах мочевого пузыря, пиелитах, при рассасывании трансудатов и экссудатов, после рвоты.

2. Белок. Используются качественные и количественные пробы, основанные на денатурации белка кипячением, действием кислот или солями тяжелых металлов. В моче здоровых животных имеется незначительное количество белка, которое обычными пробами не обнаруживается. Появление

белка в моче называется **протеинурия**. Она делится на почечную, внепочечную и ложную.

При почечной протеинурии белок выделяется в мочу в самих почках. Эта протеинурия может быть функциональная и органическая. Функциональная или физиологическая протеинурия возникает при сильном физиологическом напряжении, чрезмерном скармливании нативного яичного белка (производителям, молодняку при диарее), при переохлаждении, перегревании, при беременности (особенно в последние недели перед родами), при переливании крови, стрессах, у новорожденных животных в первые часы жизни., при ушибах почек. Все эти факторы влияют на почечную гемодинамику, в результате чего повышается проницаемость капилляров почек. Эта протеинурия исчезает после устранения причин, ее вызывающих. Органическая или патологическая протеинурия возникает в результате поражения паренхимы почек и увеличения проницаемости капилляров клубочков – при гломерулонефрите, нефросклерозе, нефрозе, нефрите, а также при застойных явлениях, при ожогах, скармливании кормов, пораженных грибками, при отравлении фосфором, мышьяком хлороформом, солями тяжелых металлов, при желтухах, инвагинациях и перекручивании кишечника, тиреотоксикозе, лихорадках.

Внепочечная протеинурия возникает вследствие попадания в мочу белка из мочевыводящих путей при пиелите, воспалении мочеточников, мочевого пузыря.

Ложная протеинурия характеризуется примесью к моче выделений из половых органов (сперма, эпителий).

3. альбумозы – продукты распада белков. В нормальной моче их нет, появляются они при лихорадках, переливании крови и плазмы, рассасывании экссудатов и трансудатов, распаде опухолей, гнойных и некротических процессах.

4. Сахар в моче определяют качественными и количественными методами. Качественное определение углеводов в моче основано на

способности глюкозы в щелочных растворах отнимать кислород и восстанавливать соли тяжелых металлов. На присутствие сахара обязательно исследуют свежую мочу, так как при ее хранении глюкоза разлагается под действием ферментов, бактерий, грибов. У здоровых животных моча содержит очень небольшое количество сахара, которое обычными методами не определяется. Выделение сахара с мочой называется **глюкозурия**. Она может быть физиологическая или алиментарная и патологическая.

При физиологической глюкозурии избыток углеводов, поступивших с кормом, организмом не усваивается и выделяется с почками (при кормлении кормами, богатыми углеводами). Кроме того, этот вид глюкозурии отмечается при введении гипертонических растворов глюкозы, в последние месяцы беременности, при травмах, испуге.

Патологическая глюкозурия возникает при острой почечной недостаточности, при хроническом нефрите, нефрозе, при сахарном диабете, бешенстве, нервной форме чумы собак, кровоизлияниях в мозг, дистрофии печени, опухолях надпочечников, гиперфункции гипофиза, отравлением скипидаром, сулемой, хлороформом.

5. Кровь и ее пигменты. Появление крови в моче называется **гематурия**. В моче здоровых животных встречаются лишь единичные эритроциты и лейкоциты (0-5 эритроцитов, 0-2 лейкоцита в 1мкл мочи). Гематурии бывают почечные, внепочечные и ложные.

Почечные функциональные гематурии являются следствием увеличения проницаемости почечного фильтра при перегревании, сотрясениях, токсикоинфекциях. Почечные патологические гематурии отмечаются при нефритах, инфаркте почек, почечнокаменной болезни, застое крови в почках, тромбозе почечных вен, сибирской язве, геморрагическом диатезе, сепсисе, гипо- и авитаминозе С.

Внепочечная гематурия возникает при пиелитах, пиелоститах, мочекаменной болезни, опухолях, гипо- и авитаминозе С.

Ложная гематурия отмечается вследствие примеси крови из половых органов.

При поражении мочевого пузыря кровь в моче распределяется неравномерно, сгустки ее чаще появляются в конце мочеиспускания. При повреждениях мочеиспускательного канала кровь выделяется с первыми порциями мочи. Кровь из уретры возможна даже без мочеиспускания.

Появление гемоглобина в моче называется **гемоглобинурия** – при гемоглобинемиях, пироплазмидозах, нутталиозах, плевропневмонии, гангрене легких, сепсисах. В результате гемолиза гемоглобин попадает в плазму и выводится с мочой. В такой моче верхний слой не отслаивается, а осадке нет эритроцитов.

Присутствие миоглобина в моче называется **миоглобинурия** – при механических повреждениях мышц, электротравмах, тяжелых миозитах, паралитической миоглобинурии лошадей.

6. Желчные пигменты у здоровых животных в моче не обнаруживаются. Появление билирубина в моче называется **билирубинурия** и связано с нарушением проходимости желчи из печени в кишечник, при усиленном распаде эритроцитов, при тяжелом поражении печени. Обнаружение билирубина является дифференциальным признаком паренхиматозной и механической желтухи. Кроме того, билирубин в моче обнаруживают при отравлении ядовитыми травами и фосфором. катаральном воспалении тонкого отдела кишечника, атонии преджелудков, сальмонеллезе, паратуберкулезе, фасциолезе.

Повышение выделения уробилина называется **уробилинурией** – при гепатите, циррозе, гемолизе крови, тяжелых отравлениях, энтероколитах, завороте кишок, инвагинации, обтурации. Появление уробилина в моче при механической желтухе – хороший прогностический признак.

Усиленное образование уробилиногена называется **уробилиногенурия**. Она связана с резким нарастанием гнилостных процессов в кишечнике. Длительное отсутствие его в моче при одновременном увеличении

билирубина говорит о неблагоприятном течении болезни (переход хронического гепатита в цирроз, обтурационная желтуха вследствие злокачественных новообразований).

7. Кетоновые тела. В моче здоровых животных кетоновых тел содержится очень мало. Их появление в большом количестве называется **кетонурия**, что бывает вследствие нарушения обмена веществ при кетозе, сахарном диабете, родильном парезе, кетонурии суягных овец, ожирении, поражении желез внутренней секреции.

8. Индикан – это калиевая или натриевая соль индоксилсерной кислоты, является постоянной составной частью нормальной мочи. Он образуется в тонком отделе кишечника при гниении белков, содержащих триптофан. Повышение индикана называется **индиканурия** – при усилении гнилостных процессов в кишечнике, длительных запорах, диспепсиях, наличии гнойных очагов в организме, разложении аскарид после дигельментизации, при непроходимости кишечника.

9. Общий азот. Аминокислоты, не использованные для синтеза белка, подвергаются распаду с образованием аммиака, углекислого газа и воды. Часть аммиака выделяется с мочой в виде солей аммония, но в основном он идет на синтез мочевины в печени. Конечным продуктом распада сложных белков вместе с мочевиной является мочева кислота. Общий азот – сумма азотсодержащих веществ (азот мочевины, мочева кислоты, креатина, креатинина, аммонийных солей). В норме содержание мочевины в моче меняется в зависимости от состава и количества кормов. При безбелковой диете оно снижается, снижается оно и при циррозе печени, ее жировом перерождении, отравлениях, а повышается при усиленном распаде тканевых белков, тяжелом диабете.

5.4 Исследование осадка мочи

Для получения осадка мочи ее отстаивают и центрифугируют 10 мл в течение 10 мин при 3000 оборотов в мин. Элементы осадка мочи подразделяются на организованные и неорганизованные.

К организованному осадку относятся эритроциты, лейкоциты, мочевые цилиндры, эпителиальные клетки, цилиндроды, микроорганизмы.

Эритроциты в моче здоровых животных не встречаются, допускается их появление до 2-х в поле зрения. Но появление их не всегда указывает на заболевание почек. Эритроциты могут иметь неизменный и измененный вид. Неизменные эритроциты, содержащие гемоглобин, имеют вид дисков желтовато-зеленого цвета. Измененные эритроциты, в которых нет гемоглобина, выглядят как бесцветные одноконтурные или двухконтурные кольца. Такие эритроциты встречаются в моче с низкой относительной плотностью, в моче с резкой щелочной реакцией или в долго хранившейся моче. Появление измененных эритроцитов в свежей моче наблюдается при нефритах, новообразованиях в почках, туберкулезе. При циститах, мочекаменной болезни, т.е. при поражении мочевыводящих путей обнаруживаются неизменные эритроциты. В моче с высокой удельной плотностью встречаются сморщенные эритроциты. Появление большого количества эритроцитов в моче называется **эритроцитурия**.

Лейкоциты в моче здоровых животных допускаются до 2-х в поле зрения. В свежей моче с нормальной или большой относительной плотностью лейкоциты имеют вид овальных серых зернистых клеток. В пробах мочи с низкой относительной плотностью лейкоциты набухают и становятся более крупными и прозрачными. Увеличение лейкоцитов в моче называется **лейкоцитурия**, а выделение большого количества лейкоцитов (50-100 в поле зрения) называется **пиурия**. Лейкоцитурия может быть истинной и ложной. Сочетание лейкоцитурии и протеинурии указывает на почечное происхождение лейкоцитов. При остром течении болезни лейкоцитов больше, чем при хроническом. Особенно их много при пиелонефритах и циститах.

Эпителиальные клетки могут попадать в мочу из почечных канальцев, почечных лоханок, мочеточников, мочевого пузыря, уретры, половых органов. У здоровых животных эпителиальные клетки в моче появляются редко. Они бывают следующих видов:

1. плоские – крупные многоугольные тельца с хорошо выраженной зернистостью в цитоплазме и ядром;
2. цилиндрические и хвостатые клетки – продолговатой формы, имеют зернистость в цитоплазме и четко выраженное ядро;
3. круглые клетки – зернистые тельца круглой формы с ядром в центре.

Эпителий мочевых канальцев в осадке обнаруживается в виде скоплений. Клетки по размерам крупнее лейкоцитов, появляются в моче при тяжелых поражениях почек.

Эпителий почечной лоханки трехслойный плоский, переходный. Поверхностные клетки больше по размерам, продолговатой, клинообразной формы, с округлым ядром. Клетки среднего слоя меньших размеров. При тяжелых поражениях в моче обнаруживаются мелкие овальные, иногда хвостатые, цилиндрические и призматические клетки глубоких слоев.

Поверхностный слой слизистой оболочки мочевого пузыря, уретры и влагалища покрыт круглыми клетками со слабой зернистостью. При более тяжелых поражениях слизистой оболочки этих отделов в моче появляются веретенообразные, хвостатые и небольшие овальные или грушевидные клетки с небольшим ядром из глубоких слоев слизистой оболочки.

Поверхностные клетки слизистой оболочки мочеточников продолговатые с хорошо выраженным ядром. Клетки более глубоких слоев меньше по размерам, веретенообразные, хвостатые.

Мочевые цилиндры. Наличие цилиндров в моче называется **цилиндроурией**. Они делятся на две основные группы: цилиндры истинные и цилиндры ложные. Истинные цилиндры представляют собой слепки канальцев почек, вымываемые мочой. Они короткие, продолговато-цилиндрической формы. К ним относятся:

1. Гиалиновые цилиндры – сформированы из белка мочи, имеют нежные очертания слепка мочевого канальца, прозрачные (поэтому их трудно обнаружить), бесцветные, по форме извитые. Их можно обнаружить только в свежей моче. При долгом хранении и аммиачном брожении гиалиновые цилиндры разрушаются. Они встречаются при остром и хроническом нефрите, нефрозе, пиелонефрите, гломерулонефрите.

2. Эпителиальные цилиндры – состоят из десквамированного почечного эпителия или же образуются на гиалиновой основе. Появление их указывает на воспалительные и дегенеративные процессы в почках при остром нефрите, нефрозе.

3. Зернистые цилиндры – образуются при перерождении почечного эпителия и распаде эпителиальных цилиндров. Они делятся на крупно- и мелкозернистые. Зернистость может быть альбумозной, жировой, липоидной природы. Альбумозная зернистость тусклая, а жировая и липоидная – блестящие. Все зернистые цилиндры непрозрачные, с перехватами, короткие, толстые, распадающиеся на сегменты. Они появляются при медленно проявляющихся заболеваниях (нефроз, хронический паренхиматозный нефрит).

4. Восковидные цилиндры – имеют желтоватый оттенок, матовые, прямые, реже извитые, встречаются преимущественно при хронических заболеваниях почек. Наличие восковидных цилиндров в моче указывает на серьезное поражение почек с неблагоприятным прогнозом (липоидный и амилоидный нефроз, острый и хронический гломерулонефрит).

5. Жировые цилиндры – представляют продукт жирового перерождения эпителиальных и зернистых цилиндров, имеющих вид прямых или слегка изогнутых образований. На поверхности цилиндров находят кристаллы в виде игл из холиевой кислоты. Эти цилиндры обнаруживаются при жировом перерождении почек, при нефрозе.

6. Эритроцитарные цилиндры - образуются при почечных кровотечениях. Они состоят из слипшихся эритроцитов или из гиалиновых

цилиндров с осевшими на них эритроцитами. Они имеют зеленоватую или зеленовато-желтую окраску. Появление эритроцитарных цилиндров характерно для нефрита, так как при нем развивается воспалительный процесс сосудистой сети мальпигиевых клубочков, что и приводит к появлению в моче кровяных элементов.

7. Гемоглобиновые цилиндры – образуются в почках из гемоглобина, выпавшего в осадок, они зернистой структуры и имеют желто-коричневый или бурый цвет.

8. Лейкоцитарные цилиндры – образуются при налипании лейкоцитов на нити слизи. Эти цилиндры наблюдаются при лейкоцитуриях.

Ложные цилиндры сходны с истинными, но тоньше их и длиннее. Они не всегда могут появляться при поражении почек. К ним относятся:

1. Восковые цилиндры – они состоят из зерен углекислой извести, встречаются в моче лошадей, крупного рогатого скота.

2. Цилиндры из уратов – они похожи на зернистые, но при подогревании исчезают.

3. Бактериальные цилиндры – построены из одинаковых подвижных палочек и кокков, противостоят действию щелочей и кислот. Присутствие большого количества этих цилиндров указывает на септическое состояние организма.

4. слизистые цилиндры или цилиндровиды – длинные бледные образования в виде широких полос. Они имеют продольную исчерченность, встречаются в моче лошади с большим удельным весом, при катаральных воспалениях мочеиспускательного канала.

К неорганизованным осадкам мочи относятся кристаллы солей и кислот, а также жиры и жирные кислоты. Кристаллические образования всегда связаны с щелочной или кислой реакцией мочи. С изменением реакции мочи одни кристаллы растворяются, а другие наоборот выпадают из растворенного состояния. Процесс выпадения солей у лошадей начинается уже в мочевом пузыре и после получения мочи в сосуде через 30-40 мин всегда в осадке

обнаруживают кристаллы. У остальных животных выпадение неорганизованного осадка в большом количестве следует рассматривать как признак патологических процессов в организме.

К неорганизованным осадкам щелочной мочи относятся:

1. Углекислый кальций – нормальная составная часть мочи травоядных животных, особенно лошади, обнаруживается в виде кристаллов различной формы или маленьких шариков с радиальной желтой исчерченностью, соединенных попарно или пучками.

2. Мочекислый аммоний или биурат аммония – кристаллизуется в виде желто-бурых шаров с шипами на поверхности. При нагревании мочи кристаллы мочекислового аммония растворяются, при охлаждении – выпадают в осадок. Мочекислый аммоний образуется в осадке загнившей мочи. При ее аммиачном брожении при цистите, пиелите, нефрите, пиелонефрите.

3. Трипельфосфат - двойной фосфат аммония и магния – указывает на аммиачное брожение в мочевом пузыре или почечной лоханке при циститах, пиелитах. Кристаллы трипельфосфата имеют форму треугольных или шестиугольных призм, могут напоминать снежинки или птичье перо, не растворяются в щелочи и горячей воде.

4. Фосфорнокислый кальций – встречается в виде отдельных кристаллов и игл, сочетание их образует фигуры в виде пучков, вееров. Растворяются в соляной кислоте.

5. Гипсуровая кислота - нормальная составная часть мочи лошадей, ее количество увеличивается после введения в организм бензойной или салициловой кислоты. Кристаллы имеют форму призм и игл, растворяются в спирте.

К неорганизованным осадкам кислой мочи относятся:

1. Оксалат кальция – встречается в моче всех домашних животных, чаще собак. Щавелевая кислота в значительных количествах поступает в организм с капустой, свеклой. на содержание оксалата кальция в моче влияет отношение кальция и магния. Чем больше кальция, тем легче оксалаты кристаллизуются.

Они имеют форму октаэдров или почтовых конвертов, шариков, песочных часов. Они растворяются в соляной кислоте. Высокая концентрация оксалата кальция в моче говорит о возможности диабета, хронического нефрита, нервных заболеваний.

2. Сернокислая известь или сульфат кальция – встречается редко и только в сильноокислой моче. Количество солей кальция зависит от количества и свойств корма. Значительная часть солей кальция выделяется через слизистую оболочку толстого кишечника. Дача легко переваримых солей кальция или добавка соляной кислоты к кормам увеличивает содержание кальция в моче, а использование щелочей, наоборот, снижает. Кристаллы имеют вид тонких, собранных в пучок, игл или розеток, не растворяющихся ни в воде, ни в кислотах, ни в аммиаке.

3. Мочевая кислота – находится в моче плотоядных и имеет вид желто-бурых кристаллов различной формы, напоминающих бруски, песочные часы. В моче травоядных этих кристаллов очень мало, число их увеличивается при голодании, лихорадках, инфекционных и инвазионных заболеваниях. Кристаллы мочевой кислоты растворяются в щелочах. Под воздействием соляной кислоты они вновь образуются.

4. Ураты – соли мочевой кислоты – представляют собой мелкие зернышки, собранные в кучки. Растворяясь при подогревании, они при охлаждении вновь выпадают в осадок. Повышение содержания уратов в моче указывает на усиленный распад белков.

Неорганизованные осадки мочи, встречающиеся лишь при заболеваниях:

1. лейцин – имеет форму шаров с круговыми и радиальными полосками, напоминающими распил дерева. Они легко растворяются в кислотах и щелочах, нерастворимы в спирте и эфире. Лейцин появляется при остром поражении печени, при отравлении фосфором, сероуглеродом, при тяжелом расстройстве обмена веществ, инфекционном энцефаломиелите, лейкемии.

2. тирозин – просматривается в виде тонких, нежных желтых нитей, собранных в пучки с перехватом посередине. Нерастворим в спирте и эфире. Встречается при тяжелых поражениях нервной системы, печени, интоксикации, атониях преджелудков.

3. Холестерин – имеет вид тонких прозрачных пластинок прямоугольной формы с вырезами на одном из углов, растворяется в эфире, хлороформе, горячем спирте. Встречается при эхинококкозе почек, их жировой дегенерации, липурии, пиелите.

4. Цистин – имеет вид шестиугольных пластинок, часто сросшихся между собой, встречается при цистинурии.

5. Гемоглобин – появляется в моче крупного рогатого скота и лошадей при гемоглобинурии в виде бурых глыбок, свободных или заключенных в мочевые цилиндры.

6. Билирубин – встречается в осадке мочи с большим количеством желчных пигментов в виде красно-оранжевых зернышек или игольчатых желтых кристаллов. Растворяется в хлороформе и щелочах.

7. Индиго - образуется в щелочной моче из индикана при индиканурии, имеет форму синих глыбок, тонких синих игл, которые растворяются в хлороформе.

Вопросы для самоконтроля:

1. Виды исследования мочи?
2. Какие показатели изучаются при микроскопическом исследовании мочи?
3. Какие показатели изучаются при химическом исследовании мочи?
4. Что такое гематурия, ее виды?
5. Что такое протеинурия, ее виды?
6. Что такое глюкозурия, ее виды?
7. Виды осадка мочи.
8. Что относится к организованным осадкам мочи?
9. Что относится к неорганизованным осадкам мочи?

10. Из чего состоит осадок щелочной мочи?
11. Из чего состоит осадок кислой мочи?
12. Что относится к патологическому осадку?

6. ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ

6.1 Значение гемоанализа

Кровь является жидкой тканью организма, в которой, как в зеркале, отражается его физиологическое состояние. Значение гемоанализа в диагностике заболеваний определяется ролью крови в организме.

Основные функции крови:

- 1) транспортировка к органам, тканям и клеткам организма питательных веществ, кислорода из легких, благодаря которому осуществляются окислительные процессы и удаление углекислого газа и продуктов метаболизма через экскреторные органы и системы;
- 2) непосредственное участие в регуляции кислотно-щелочного равновесия, осмотического давления;
- 3) гормональная связь между органами и системами;
- 4) защитная функция (фагоцитоз, образование антител);
- 5) распределение тепла в организме.

У здоровых животных при нормальных физиологических условиях существует постоянство химико-морфологического состава и физико-химических свойств крови. Между процессами кроветворения и кроверазрушения имеется равновесие, которое зависит от нейрогуморальной регуляции, находящейся под контролем коры головного мозга. Кроветворные органы чувствительно реагируют на различные физиологические и патологические воздействия на организм изменением картины крови. Поэтому исследование крови имеет большое диагностическое значение.

Исследование крови позволяет в комплексе с клиническими исследованиями выявить скрытые, не проявляющиеся клинически, изменения в органах и тканях, то есть диагностировать субклиническую форму

заболевания, определить возникшие осложнения при том или ином заболевании, дифференцировать сходные заболевания, судить о тяжести болезни, функциональном состоянии отдельных органов, следить за эффективностью лечения, прогнозировать заболевание. При заболевании кроветворных органов и паразитарных заболеваниях крови гемолитическому исследованию принадлежит решающее слово.

Полное клиническое исследование крови складывается из исследования ее физических свойств, химического состава, морфологических особенностей, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов.

При физическом исследовании определяют цвет крови, длительность кровотечения, ее свертываемость, вязкость, удельный вес, ретракцию кровяного сгустка, скорость оседания и резистентность эритроцитов.

Химическое исследование состоит в определении реакции крови, щелочного резерва, гемоглобина, белка и белковых фракций, билирубина, остаточного азота, мочевины, мочевой кислоты, креатина, креатинина, холестерина, молочной кислоты, сахара, натрия, калия, кальция, магния, хлора, фосфора, протеазы, липазы, каталазы.

При морфологическом исследовании определяют число, величину, форму и окраску эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, наличие в них включений, их дегенеративные изменения, процентное соотношение между отдельными видами лейкоцитов.

Не обязательно проводить все эти исследования у каждого больного животного. Чаще всего определяют количество гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарную формулу и морфологические особенности этих клеток. При необходимости определяют скорость оседания эритроцитов, их осмотическую устойчивость, резервную щелочность, содержание билирубина и кальция в сыворотке крови.

Кровь берут из одних и тех же сосудов по возможности в одно и то же время (лучше всего утром до водопоя и кормления животного). В случае однократного исследования амбулаторно больного животного кровь у него

берут после того, как оно успокоится и отдохнет. У больного животного за время его болезни кровь берут по возможности несколько раз.

С целью морфологического исследования крови у животных берут небольшое ее количество – несколько капель - из сосудов наружной поверхности уха. Для того, чтобы получить большое количество крови, ее берут у крупных животных из яремной вены. В месте прокола шерсть выстригают и кожу дезинфицируют. У собак кровь берут из вены сафена на тазовой конечности или подкожной вены предплечья на грудной конечности. У кур кровь берут из разреза на гребне или сережках, а у гусей и уток из мякоти ступни ног.

6.2 Состав крови

Кровь состоит из жидкой части – плазмы и взвешенных в ней форменных элементов. Если кровь брать в пробирку без добавления антикоагулянта, то после образования и ретракции кровяного сгустка отделяется сыворотка. Сыворотка отличается от плазмы отсутствием белка фибриногена, который при свертывании крови переходит в нерастворимый фибрин.

У млекопитающих и птиц кровь красного цвета, солоноватого вкуса, своеобразного запаха, густая и вязкая, удельный вес 1,045-1,060. реакция крови слабощелочная, почти нейтральная (рН=7,4). Эта реакция крови в организме очень стойко удерживается химической регуляцией или буферными системами, выделением углекислого газа и других кислых продуктов через легкие и почки.

Форменные элементы взвешены в плазме и распределены в ней равномерно, но общее число их и процентное соотношение между ними различно у разных животных и даже неодинаково у одного и того же животного в различных органах. Наибольшее количество форменных элементов содержат кроветворные органы – костный мозг, селезенка, лимфатические узлы. В периферических сосудах форменные элементы составляют в среднем 35-40% всей крови.

Плазму крови можно разделить на воду (90-92%), газы (1%), сухое вещество (8-10%), которое состоит из органических и неорганических веществ. основную массу органических веществ плазмы составляют белки крови: сывороточный альбумин, глобулины, фибриноген. Из других азотсодержащих веществ в плазме находят мочевину, мочевую кислоту, аминокислоты, альбумозы, аммиак, креатин, креатинин, пуриновые основания, гиппуровую кислоту, индикан. Все эти вещества образуют группу «остаточного азота» и содержатся в крови в количестве 0,02-0,04%. Кроме азотистых веществ в кровяной плазме содержатся и безазотистые вещества – глюкоза, жиры, липоиды. Глюкоза содержится не только в плазме, но и в эритроцитах. Общее количество глюкозы в крови составляет примерно 0,1%. Жир также находится постоянно в плазме крови, но его количество зависит от степени жирности пищи. Из других органических веществ в плазме крови находятся пигменты (липохром, билирубин), ферменты (амилаза, оксидаза, пероксидаза, липаза, протеолитический фермент), гормоны и различные вещества, относящиеся к группе антител: антиферменты, гемолизины, агглютинины. Неорганические составные плазмы крови составляют около 1% к весу плазмы и примерно 10% ее сухого вещества.

Кроме этих веществ в крови содержатся кислород, углекислый газ, азот. Газы частью растворены в кровяной плазме, а частью химически связаны с различными составными частями крови. Азот находится в плазме только в состоянии физического растворения (около 1%). Кислород в основном связан гемоглобином, только небольшая его часть растворена в кровяной плазме. Углекислый газ находится в крови в трех состояниях: одна часть его физически растворена в плазме, другая химически прочно связана с углекислыми щелочами, а третья химически слабо связана с белками. В артериальной крови 70% его содержится в плазме и 30% - в эритроцитах, а в венозной 60% - в плазме и 40% - в эритроцитах.

6.3 Физическое исследование крови

Цвет крови определяют, просматривая ее в тонком слое при падающем и проходящем свете. Нормальная кровь не прозрачна, при гемолизе становится прозрачной, лаковой. В зависимости от содержания гемоглобина, насыщенности углекислым газом, количества эритроцитов и лейкоцитов цвет крови может быть темно-красным, красным, светло-красным, бледным и молочным при лейкомиях.

Артериальная кровь обычно светлее венозной и в норме имеет алый цвет. Плазма и сыворотка крови у здоровых животных в большинстве случаев имеет желтоватый оттенок, при желтухах – желтый или желто-зеленый, при гемоглобинемии – красноватый.

Свертываемость крови. Очень быстро свертывается кровь у птиц. Повышается скорость свертывания после кровотечений, при гемоглобинемии, крупозной пневмонии. Кровь медленно свертывается при гемофилии, анемии, холемии, нефрите, почти совсем не свертывается при сибирской язве, при удушьи.

Самый простой способ определения скорости свертывания крови на предметном стекле. Каплю крови наносят на обезжиренное, чистое и сухое стекло ближе к одному из его коротких краев и сразу же ставят стекло вертикально на противоположный край. Капля стекает и оставляет за собой след. По этому следу каждые 30 секунд проводят чистой иглой. Пока свертывание не наступило на игле не остается следов крови. признаком наступления свертывания служит появление нитей фибрина на игле. У лошадей скорость свертывания при определении этим способом 8-10 минут, у крупного рогатого скота – 5-6 минут, у собаки – 10 минут.

Ускорение свертываемости отмечают при миоглобинурии, лобарной пневмонии, кровопотерях, замедление – при заболеваниях, протекающих с геморрагическим диатезом, при анемиях, нефритах, холемии. Почти не свертывается кровь при сибирской язве, удушье, инфекционной анемии, пироплазмидозах.

Ретракция кровяного сгустка. Ретракцией называется самопроизвольное отделение сыворотки от сгустка при отстаивании крови. В нормальной крови лошади частичная ретракция наступает через 1-3 часа, полное отделение сгустка – через 12-18 часов после взятия крови. У крупного рогатого скота ретракция протекает медленнее.

Для определения ретракции кровь набирают в сухую и обезжиренную пробирку и отстаивают при комнатной температуре. Ослабление ретракции объясняется уменьшением в крови количества тромбоцитов и изменение концентрации солей. Оно бывает при заболеваниях, сопровождающихся лихорадкой. Отсутствие ее наблюдается при экссудативном плеврите, контагиозной плевропневмонии, инфекционной анемии лошадей, гемоспориридозах.

Длительность кровотечения. Время, в течение которого рана кровоточит, в значительной степени зависит от количества кровяных пластинок в крови. Для определения длительности кровотечения делают укол сосуда уха животного и через каждые полминуты к ранке прикладывают полоску фильтровальной бумаги. С каждым разом капля крови на бумаге уменьшается, потом кровотечение полностью останавливается, и бумага остается совершенно чистой. У лошадей в норме кровотечение останавливается через 2-3 минуты, при тромбопении – значительно позже.

Вязкость крови. Под вязкостью крови понимают внутреннее сопротивление или трение крови при ее прохождении по капиллярам в условиях определенной температуры и давления. Вязкость крови зависит, прежде всего, от количества и величины форменных элементов крови, от содержания гемоглобина, углекислого газа, от вязкости плазмы, которая, в свою очередь, зависит от содержания в ней солей, количества и состава белка. С увеличением в крови количества эритроцитов и лейкоцитов, содержания гемоглобина, углекислого газа, минеральных солей и белков, особенно глобулинов, вязкость ее повышается. Этим объясняется повышенная вязкость крови у животных при потении, поносах, рвоте, венозных застоях,

декомпенсированных пороках сердца. Первичные и вторичные анемии, падение количества лейкоцитов и резкие кахексии, наоборот, вызывают понижение вязкости крови. Вязкость крови определяется специальным прибором – вискозиметром.

Относительная плотность крови. В норме он колеблется в небольших пределах. Эти колебания зависят от концентрации в плазме солей, содержания гемоглобина и от количества белка. У здоровых животных различных видов относительная плотность колеблется от 1,040 до 1,075, причем у самцов он несколько выше. Повышение относительной плотности отмечается при полицитемиях (увеличении количества эритроцитов в крови), при сгущении крови в результате потения поноса, полиурии, образовании отеков, увеличения содержания в крови сахара, кальция. Понижается относительная плотность при анемиях, гемолитической желтухе и разжижении крови (прием воды, гидремия). Более точным для определения относительной плотности крови является пикнометрический метод Шмальца. Для этого тонкую стеклянную трубочку с вытянутыми концами емкостью 0,2 мл, промывают дистиллированной водой, затем высушивают спиртом и эфиром и взвешивают на химических весах с точностью до 0,1 мг. Трубочку наполняют дистиллированной водой, обсушивают снаружи и вновь взвешивают при температуре 15°. После этого воду выдувают и снова взвешивают. Делением веса крови на вес дистиллированной воды получают относительную плотность испытуемой крови.

Скорость оседания эритроцитов. Сущность определения состоит в различной скорости оседания эритроцитов цитратной крови в сосуде. У лошадей эритроциты оседают быстро, у свиней и кошек медленно, у собак, кроликов и птиц еще медленнее, у крупного и мелкого рогатого скота наиболее медленно. Все эритроциты имеют одноименный электрический заряд (отрицательный). Как тела с однородным зарядом, взвешенные в плазме эритроциты отталкиваются друг от друга и поэтому остаются взвешенными в плазме крови. При увеличении в плазме количества глобулинов электрически

положительные ионы адсорбируются на поверхности эритроцитов, вытесняя альбумины, и, таким образом, нейтрализуют часть отрицательных ионов оболочки эритроцитов. Кроме того, при адсорбции на поверхности эритроцитов альбуминов и глобулинов эритроциты становятся тяжелее и оседают быстрее. В плазме лошади имеется большое количество глобулинов, которые являются грубодисперсными и высокомолекулярными белками, а в плазме крупного рогатого скота больше альбуминов. Поэтому у лошади СОЭ протекает быстрее, чем у крупного рогатого скота.

СОЭ увеличивается при уменьшении количества эритроцитов, солей, гемоглобина, вязкости плазмы, увеличении насыщенности крови кислородом, повышении температуры окружающей среды и наоборот. При уменьшении щелочного резерва СОЭ замедляется. Соли кальция и бария и холестерин действуют на СОЭ ускоряющим образом, а соли калия и натрия, как и лецитин, задерживают оседание. Значение для СОЭ имеет количество находящегося в плазме фибриногена, который образует вязкую массу, оседая на эритроцитах. Соприкасаясь своими поверхностями, эритроциты склеиваются в кучки и падают на дно. С увеличением количества фибриногена скорость СОЭ увеличивается.

СОЭ увеличивается при анемиях, особенно, при инфекционной анемии лошадей, при мыте, сапе, чуме свиней, при злокачественных новообразованиях, гнойных воспалительных процессах, пироплазмозе, нутталиозе. Замедление реакции наблюдается у животных при переутомлении, сильном потении, полиурии, поносах, гиперкальциемии, инфекционном энцефаломиелите, механической и паренхиматозной желтухе, столбняке, гастроэнтерите, коликах.

Определение СОЭ проводят в аппарате Панченкова, учитывают СОЭ через 1 час и выражают в мм. У здоровых животных она составляет:

крупный рогатый скот	0,5-1,5	лошади	40 -70
овцы	0,5-1,0	собаки	2-6
козы	3-1,0	куры	2-3

Определение резистентности эритроцитов. Под резистентностью эритроцитов понимают их осмотическую устойчивость к гипотоническим растворам хлористого натрия. В изотоническом растворе эритроциты долго сохраняют свою форму. При понижении концентрации раствора наступает гемолиз. Эритроциты набухают, а затем распадаются и окрашивают солевой раствор. Резистентность эритроцитов обусловлена содержанием в них фосфора и липоидов. Наибольшая устойчивость эритроцитов отмечена у кроликов. Затем идут лошадь, крупный рогатый скот, овца, свинья. Понижение устойчивости эритроцитов отмечается у животных при голодании, отравлении бензином, ксилолом, хлороформом и эфиром в результате обезжиривания и обеднения липоидами эритроцитов, а также при «омоложении» крови. Повышение устойчивости эритроцитов наблюдается при постарении крови, ослаблении деятельности костного мозга, а также при их усиленном распаде (кровоизлияния, переливание крови, отравления кровяными ядами, инфекционные и инвазионные заболевания).

Начальная стадия гемолиза наименее стойких эритроцитов характеризуется слабым розовым окрашиванием жидкости и наличием большого осадка сохранившихся эритроцитов. Концентрация гипотонического раствора, обуславливающего начальную стадию гемолиза, обозначается как показатель минимальной резистентности эритроцитов. Концентрация, вызывающая полный гемолиз с вишнево-красным окрашиванием прозрачной жидкости при отсутствии осадка определяет максимальную резистентность. Амплитуда между минимальной и максимальной резистентностью эритроцитов называется шириной резистентности.

Определение общего количества крови. Увеличение количества крови возможно при нефрите без отеков, сердечно-сосудистой недостаточности, вторичных анемиях. Увеличение количества крови на 150 % - опасно для организма вследствие значительных колебаний кровяного давления.

Уменьшение общего количества крови (**олигемия**) наступает после каждой кровопотери, в исключительных случаях при кахексии. Олигемия при хронических анемиях происходит за счет клеток крови и плазмы.

Общее количество крови определяется методом с физиологическим раствором. У животного берут из вены пробное количество крови, затем вливают столько же физраствора и через 3-4 минуты вновь берут пробное количество крови. Калориметрически сравнивают содержание гемоглобина в обеих пробах и определяют степень разведения. Затем вычисляют общее количество крови в организме.

6.4 Биохимическое исследование крови

Определение резервной щелочности или щелочного резерва для диагностики и прогноза имеет гораздо большее значение, чем определение рН крови. Организм обычно стойко сохраняет постоянство реакции своей жизненной среды. рН крови остается неизменным даже в период его напряженной борьбы и падает лишь с истощением его ресурсов, тогда как щелочной резерв – величина сравнительно легко изменяющаяся и падение его сигнализирует о надвигающейся опасности еще задолго до клинического проявления болезни. Стойкость рН крови достигается наличием в ней буферных систем и деятельностью выводящих систем. В тех случаях, когда функция выводящих систем ослабевает или образуется повышенное количество органических кислот, организм, чтобы сохранить рН крови неизменным, нейтрализует эти кислоты за счет щелочного резерва, вследствие чего он уменьшается.

Наиболее полно можно определить состояние кислотно-щелочного равновесия с помощью микрометода на аппарате «Аструп» или отечественных приборах АЗИВ, АКОР, на которых одновременно устанавливают несколько показателей. Однако, в связи со сложностью указанных аппаратов в клинической лабораторной практике пользуются определением щелочного резерва плазмы крови газометрическим методом по Ван-Слайку с помощью

аппарата ЩР-3 или титрометрически по И.П. Кондрахину с использованием микродиффузного прибора. Наиболее простым является способ Неводова, заключающийся в титровании раствора соляной кислоты и крови гидроокисью натрия.

У животных при поедании кислых кормов щелочной резерв уменьшается, а при поедании щелочных – увеличивается. У лошадей щелочной резерв сильно снижается после работы, но после незначительного отдыха восстанавливается.

Избыток кислоты называется **ацидозом**. Если ацидоз без сдвига рН, то он называется *компенсированным*, а если со сдвигом рН – *некомпенсированным*. Кроме того, ацидоз бывает *газовый* (дыхательный, респираторный) и *негазовый* (метаболический).

Газовый ацидоз является следствием избытка угольной кислоты из-за чрезмерного образования ее в организме или гиповентиляции (бронхиальная астма, эмфизема легких, бронхит).

Негазовый ацидоз развивается при недостаточности обменных процессов (кетозы, рахит, диспепсия, сердечно-сосудистая и дыхательная недостаточность, атония преджелудков, бронхопневмония, сахарный диабет, нефрит).

Избыток щелочных веществ, а вместе с тем и недостаток кислот называется **алкалозом**. Он также бывает *компенсированный* и *некомпенсированный*, *газовый* и *негазовый*.

Газовый алкалоз отмечается при органических поражениях центральной нервной системы, происходящих с раздражением дыхательного центра и выраженной гипервентиляцией (опухоли, энцефаломиелит).

Негазовый ацидоз возникает вследствие скопления в организме оснований при сильной рвоте, вливании щелочных растворов.

Основную часть сухого вещества плазмы составляют белки. Имеется несколько десятков различных белков, которые делятся на две основные

группы: альбумины и глобулины. Альбумины и фибриноген образуются в печени; глобулины, кроме печени, еще и в костном мозге, селезенке, лимфоузлах.

Белки плазмы выполняют многообразные функции. Они поддерживают нормальный объем крови и постоянное количество воды в тканях. Как крупномолекулярные коллоидные частицы белки не могут проходить через стенки кровеносных сосудов в тканевую жидкость. Оставаясь в крови, они притягивают некоторое количество воды из тканей в кровь и создают онкотическое давление.

Большую роль играют белки в транспорте питательных веществ. альбумины связывают и переносят жирные кислоты, пигменты желчи. α - и β -глобулины участвуют в транспорте холестерина, стероидных гормонов, фосфолипидов. β -глобулины переносят металлические катионы.

Белки плазмы крови и, прежде всего, фибриноген участвуют в свертывании крови. Обладая амфотерными свойствами, они поддерживают кислотно-щелочное равновесие. Белки создают вязкость крови, стабилизируют кровь, препятствуя чрезмерному оседанию эритроцитов. В γ -глобулиновую фракцию белков входят различные антитела, которые защищают организм от вторжения бактерий и вирусов.

Общий белок и белковые фракции крови претерпевают качественные и количественные изменения в зависимости от вида животных, возраста, пола, климатических условий, состояния здоровья, срока беременности. Наибольшее содержание α - и γ -глобулинов наблюдается в летнее-осеннее время. Высокое содержание глобулинов обуславливает высокую резистентность организма. Кроме того, на общее количество белков в крови влияет также и время суток, и физическая нагрузка. Утром содержание белка бывает меньше, чем вечером и после работы.

Значительно изменяется белковый состав крови в зависимости от срока беременности. У коров содержание альбуминов и γ -глобулинов до 9-го месяца

стельности удерживается на высоком уровне, а затем количество их быстро снижается к отелу.

Уменьшение общего количества белка называется **гипопротеинемия**. Она возникает при недостаточном поступлении в организм белков; нарушении синтетической функции печени и реабсорбционной способности почек, что способствует значительной потере белка с мочой; при угнетении процессов биосинтеза белков крови; при отравлениях, ранениях, травмах, ожогах, когда требуется повышенное количество белка; при экссудативных и транссудативных процессах, когда выделяется большое количество белка. Причинами гипопротеинемий могут быть нарушения функции желудочно-кишечного тракта (гастриты, гастроэнтериты, колики) при острых и хронических кровотечениях, гидремии, абсцессах, циррозе печени, опухолях.

Увеличение содержания общего белка называется **гиперпротеинемия**. Она наблюдается вследствие сгущения крови, обезвоживания организма при диспепсиях, профузных поносах, гипергидрозах, гастроэнтеритах, бронхопневмониях, при диабете, гепатите в стадии выздоровления, недостатке каротина в кормах, при концентратном типе кормления при избытке переваримого протеина и недостатке легкопереваримых углеводов, неправильном соотношении кальция и фосфора, недостатке витамина Д, острых воспалениях, флегмонах, сепсисах.

Отношение альбуминов к глобулинам выражается белковым коэффициентом. У свиней, овец, кроликов, коз, собак и человека он больше единицы, а у лошадей и крупного рогатого скота – меньше. Изменение соотношений основных функций белка называется диспротеинемией. При поражении печени отмечается уменьшение количества альбуминов. Степень диспротеинемии при этом выражается тем больше, чем сильнее нарушена функция органа в результате его дистрофических поражений.

Уменьшение количества альбуминов в сыворотке крови называется **гипоальбуминемией** и отмечается при циррозе печени, голодании,

пневмонии, бронхопневмонии, при лейкозах, кетозах, диспепсии поросят, А-гиповитаминозе, миоглобинурии лошадей.

Увеличение концентрации альбуминов называется **гиперальбуминемией** и отмечается при дегидратации.

Гипоальфаглобулинемия отмечается при лейкозах, **гиперальфаглобулинемия** – при пневмонии, туберкулезе, сепсисе, опухолях, острых инфекционных болезнях, **гипербетаглобулинемия** – при нефрозе, нефрите, нефросклерозе, кахексии, злокачественных опухолях, лейкозе, желтухах, **гипогаммаглобулинемия** – при нефрозе, нефросклерозе, кахексии, **гипергаммаглобулинемия** – при пневмониях, полиартрите, туберкулезе, сепсисе, острых инфекционных болезнях, эндокардите, холицистите, пиелите гепетитах, циррозе печени, лейкозе, обтурационной желтухе.

при заболеваниях печени, при кормовых отравлениях, кахексии, раневом сепсисе, постгеморрагической анемии наблюдается **гипофибриногенемия**.

Особенно важное значение имеет определение белка в крови у молодняка. Уровень общего белка и белковых фракций в сыворотке крови новорожденных телят в первые дни жизни находится в прямой зависимости от уровня белков в крови матери и молозиве. После рождения у телят количество альбуминов преобладает над глобулинами. Среди последних больше альфа-глобулинов, гамма-глобулины отсутствуют. Они появляются на 36-48 часу жизни. С возрастом соотношение белковых фракций изменяется, количество альбуминов снижается, а гамма-глобулинов повышается. Телята с гипопроотеинемией и гипогаммаглобулинемией обладают меньшей резистентностью и чаще заболевают в первые дни жизни. При заболевании диспепсией уровень общего белка крови и альбуминов уменьшается, а гамма-глобулинов – увеличивается. После переболевания происходит обратный процесс.

Кроме изменения уровня общего белка сыворотки крови и диспротеинемии, иногда возрастает количество конечных продуктов распада

белков, которые, не расщепляясь, выделяются из организма. К ним относятся мочевины, аминокислоты, мочевины, креатин, креатинин, индикан, которые объединены в группу остаточного азота. При нормальных условиях в крови животных содержится от 15 до 50 мг% остаточного азота. Повышение содержания остаточного азота крови называется **гиперазотемия**.

Она бывает при лихорадке, при состояниях, сопровождающихся потерей большого количества жидкости и электролитов, при непроходимости кишок, обильных поносах, сильном потении, в послеоперационные периоды, при алкалозах, при обширных ожогах.

Количество общего белка в сыворотке крови определяют чаще всего с помощью рефрактометра. Для исследования белковых фракций применяется электрофорез.

Определение гемоглобина. Гемоглобин является дыхательным ферментом, содержащимся в эритроцитах. Он переносит молекулярный кислород из легких в ткани, транспортирует углекислый газ из тканей в легкие, входит в состав гемоглобиновой буферной системы крови, участвующей в регуляции кислотно-щелочного равновесия.

Для определения количества гемоглобина пользуются калориметрическими методами с использованием гемометра, гемоглобинометров, фотоэлектрокалориметров.

В клинической практике чаще наблюдается снижение содержания гемоглобина в крови - **олигохромемия**, которая может быть при анемиях, возникающих вследствие острых и хронических кровотечений, дефицита железа, витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, гемолиза эритроцитов, при пироплазмидозах, алиментарном истощении, ряде инфекционных болезней.

Увеличение количества гемоглобина – **гиперхромемия** – встречается при поносах, повышенной потливости

Углеводы являются основным источником энергии в организме. Ими обеспечивается примерно 60-76% потребности организма в энергии. Кроме того, некоторые углеводы, соединяясь с белками и липидами образуют

структурные компоненты клеток и их оболочек. Основным источником углеводов для сельскохозяйственных животных служит полисахарид клетчатка.

6.5 Морфологическое исследование крови

Исследование эритроцитов. Эритроциты – красные кровяные тельца. Их основная функция – осуществление газообмена. Подсчитано, что у человека за сутки эритроциты переносят около 800 литров кислорода и 200 литров углекислого газа. Кроме того, эритроциты участвуют во многих физиологических процессах: адсорбируют аминокислоты, липиды, токсины, участвуют в ферментативных процессах (в эритроцитах содержится около 40 ферментов), участвуют в гликолизе, поглощают некоторые лекарственные вещества, фиксируют ряд вирусов. эритроциты содержат антибиотик эритрин, который губительно действует на некоторые вирусы. Эритроциты содержат вещества, обуславливающие группу крови, они поддерживают буферные свойства крови. Оболочка эритроцитов проницаема для анионов и непроницаема для катионов и гемоглобина, благодаря чему они участвуют в регуляции ионного равновесия плазмы.

Эритроциты образуются в костном мозге, а при патологических состояниях и в других органах – печени и селезенке. Целостность эритроцитов обуславливается осмотической стойкостью. Продолжительность жизни эритроцитов – 116 ± 5 дней. Разрушаются они в ретикулоэндотелиальной системе селезенки и печени. У крупного рогатого скота каждый час погибает около 50 млн эритроцитов.

Количество. У коров с массой тела 350-400 кг в крови около 125 триллионов эритроцитов. Чтобы получить представление об этом количестве клеток приводятся следующие расчеты. Если сложить все эритроциты рядом в одну линию, то образуется цепочка длиной 935 тысяч километров, которой можно обернуть земной шар по экватору 22,5 раза, а если поставить их друг на друга, то получится столб высотой 310 тысяч километров. Если их считать

с обычной скоростью подсчета, с которой считает опытный гематолог – 100 клеток в 1 минуту, то для подсчета всех эритроцитов в крови потребуется более 20 млн. лет.

Факторы, влияющие на количество эритроцитов.

1. Время суток. Суточные колебания эритроцитов в пределах 300 000 – 500000, максимальное их содержание утром, минимальное ночью. Вечером немного выше по сравнению с дневным количеством.

2. Возраст. В первый день жизни животного содержание эритроцитов в крови более высокое. У новорожденных телят в первые дни жизни число эритроцитов в среднем составляет 10,6 млн., у жеребят – 13-16 млн.

3. Пол. Содержание эритроцитов в крови бычков в первые дни жизни часто бывает выше на 5-10 %, чем у телочек.

4. Конституция. Лошади астенического типа имеют большее количество эритроцитов, чем лошади пикнического и мускулярного типа.

5. Продуктивность. Более высокие показатели имеют продуктивные коровы.

6. Местность. Животные, обитающие в высокогорной местности в условиях разреженного воздуха с пониженным парциальным давлением имеют повышенный уровень содержания эритроцитов. У коров, находящихся на высоте 1400-2000 метров над уровнем моря количество эритроцитов достигает 8,6-8,7 млн. При перемещении животных в долину количество эритроцитов снижается до 6 млн.

Увеличение количества эритроцитов называется **полицитемия (эритроцитоз, полиглобулия)**.

В зависимости от преобладания того или иного компонента незрелый эритроцит окрашивается в синевато-розовый, слабо-фиолетовый, светло-синий и темно-синий цвета. Полихромазия свидетельствует об усиленной регенерации крови и наблюдается при выраженных анемиях гемоглобинемии и сопровождается пойкилоцитозом.

Базофильная пунктация – в виде ясных темно-синих зернышек различной величины, располагающихся преимущественно по краям эритроцита при окраске 1%-ным раствором метиленового синего – при септических процессах, вторичных анемиях, гемоглобинемии, отравлениях, после приема сульфаниламидов, при некоторых инфекционных заболеваниях, после рентгеновского облучения, при нарушении работы желез внутренней секреции. Может встречаться и у здоровых животных. Особенно много таких эритроцитов у эмбрионов. Появление грубой зернистости – ранний симптом отравления свинцом и ртутью (до 500 из 1 млн подсчитанных).

Ретикулоцитоз –повышенное содержание ретикулоцитов в крови. Прежде чем превратиться в эритроцит оксифильный эритробласт проходит через стадию зернистого эритроцита или ретикулоцита. Он имеет зернисто-сетчатую субстанцию при окраске бриллиантовым крезоловым синим. Ретикулоциты обнаруживаются в крови новорожденных животных, но в единичном количестве могут быть и в крови взрослых. В большом количестве они появляются в костном мозге при заболеваниях, сопровождающихся усиленной регенерацией крови (инфекционная анемия лошадей). Малое количество ретикулоцитов и отсутствие их нарастания при лечении больного животного указывает на резкое угнетение эритропоэтической функции костного мозга, а отсутствие ретикулоцитов при анемии свидетельствует о подавлении этой функции костного мозга и является плохим прогностическим признаком.

Азурофильная полихроматофилия и азурофильная пунктация эритроцитов появляются при тяжелых анемиях, отравлениях свинцом, острых лейкозах. В этом случае в эритроцитах обнаруживаются точки и глыбки красно-фиолетового цвета.

Тельца Жолли – остатки ядерного хроматина в виде округлых, овальных фиолетово-красных образований, располагающихся в центре и резко выделяющихся на поверхности эритроцитов наблюдаются при тяжелых анемиях.

Кольца Кебота – остатки ядерной оболочки в виде тонких нитеобразных ярко-красных включений в форме кольца, восьмерки, двойных или тройных петель, состоят из зернышек, собранных в замкнутую цепь. Расположены в центре или сдвинуты к периферии клетки – при тяжелых анемиях, острых лейкозах, при отравлении солями тяжелых металлов.

Тельца Гейнца-Эрлиха – круглые включения, располагающиеся по периферии зрелых эритроцитов в количестве 1-3. Выявляются они путем окраски свежей капли крови метилвиолетом при тяжелых отравлениях веществами, окисляющими гемоглобин, и сопровождающимися гемоглобинемией. Это первый признак начинающегося гемолиза крови.

Исследование лейкоцитов. Бесцветные клетки крови называются лейкоцитами. По свойствам цитоплазмы и характеру зернистости лейкоциты делятся на две основные группы:

1. клетки с гранулами в цитоплазме – **гранулоциты** (базофилы, эозинофилы, нейтрофилы);
2. клетки без гранул – **агранулоциты** (лимфоциты, моноциты)

Базофилы – округло-овальные клетки. Цитоплазма слабо окрашена в фиолетовый цвет и заполнена мелкой зернистостью. Темно-фиолетовые гранулы собраны пучком или разбросаны по всей цитоплазме. Ядро окрашено в фиолетовый цвет, сегментировано, с толстыми перемычками. Базофилы содержат большое количество гепарина. Благодаря этому, они активно участвуют в предотвращении свертывания крови и лимфы в очаге воспаления. Наличие гистамина в гранулах позволяет им принимать активное участие в воспалительных и аллергических реакциях. Кроме того, они участвуют в жировом обмене, во взаимодействии антиген + антитело. В нормальной крови их **0-2 %**.

Эозинофилы – крупные клетки снежно-голубой цитоплазмой, имеющей крупные ацидофильные (розовые или малиновые) гранулы. Ядро фиолетовое, состоит из 2-4 сегментов или палочковидное. Эозинофилы обладают антигистаминной функцией, т.е. нейтрализуют избыток гистамина,

выделяющийся в большом количестве при аллергии, тем самым принимают участие в аллергических реакциях, обладают дезинтоксикационной функцией, т.е. переносят продукты распада белков, обладают способностью к активному фагоцитозу. В нормальной крови их **3-10 %**.

Нейтрофилы.

1. Миелоциты – незрелые формы нейтрофилов. Цитоплазма розовая, светло-синяя или дымчатого цвета со слабо выраженной мелкой, неравномерно распределенной зернистостью розового или красно-фиолетового цвета, ядро массивное, округло-овальное или почковидное, неравномерно окрашивается в фиолетовый цвет, обнаруживаются только в патологически измененной крови.

2. Юные (метамиелоциты) – переходная форма от миелоцита к зрелой форме нейтрофила. Они больше зрелых форм. Цитоплазма светло-розовая, бледно-голубая, серо-дымчатая. Ядро окрашено неравномерно. Форма ядра овальная, бобовидная, колбасовидная и занимает оно половину или одну треть клетки. У животных их 0-1%. Нет в нормальной крови собак, кроликов, птиц.

3. Палочкоядерные – зрелые клетки, цитоплазма бледно-розовая, с серовато-голубоватым оттенком, мелко-розовой или красно-фиолетовой зернистостью. Ядро палочковидное, часто изогнутое. В нормальной крови – 1-9%.

4. Сегментоядерные – самые зрелые клетки из нейтрофилов, по величине, окраске и зернистости цитоплазмы сходны с палочкоядерными. Ядро темно-фиолетового цвета, разделено на сегменты (2-12), соединено нитевидными перемычками, иногда едва заметными. Узкая часть ядра составляет до одной трети ширины его остальной части.

Благодаря наличию гидролитических и других ферментов нейтрофилы участвуют в фагоцитозе (около 90%). Кроме того, они осуществляют вирусоцидную, дезинтоксигирующую, кондидоцидную функции. В основном нейтрофилы образуют активные эндогенные пирогены и участвуют в формировании лихордочных реакций, являются активными ферментообразователями, участвуют в белковом обмене, образовании и переносе антител, стимулируют процессы регенерации тканей (20-80%).

Лимфоциты. Различают большие, средние и малые клетки. В больших лимфоцитах голубая цитоплазма, окружает ядро каймой широкой с одной и узкой с другой стороны, сетчатая, иногда с ярко-красными зернами. Имеется светлая перинуклеарная зона. Ядро круглое, бобовидное, почковидное, темно-фиолетовое. Средние похожи на большие, но меньше по размерам. Малые лимфоциты имеют интенсивно синюю цитоплазму, охватывающую полумесяцем ядро с одной стороны. Также имеется перинуклеарная зона. Ядро круглое овальное, бобовидное, темно-фиолетового цвета У здоровых животных в периферической крови преобладают малые лимфоциты, а средние и большие составляют не более 5-6%, в отдельных случаях они могут даже отсутствовать. (60-80%).

Лимфоциты участвуют в процессах клеточного и гуморального иммунитета, образуя антитела, участвуют в фагоцитозе и адсорбируют токсины, содержат ряд ферментов, участвуют в кишечном пищеварении.

Моноциты – самые крупные клетки нормальной крови. Это круглые, овальные клетки с большим содержанием цитоплазмы, серо-дымчатого или серо-синего цвета с пылевидной зернистостью Ядро моноцитов разнообразной формы - в виде подковы, бабочки, трилистника, может быть сильнолопастным или грубо сегментированным, неравномерно окрашивается в слабо-фиолетовый цвет с темно-фиолетовыми пятнами (0-10)

Лейкоцитоз - увеличение количества лейкоцитов в крови выше нормального содержания их для данного вида животных. Увеличение числа лейкоцитов имеет клиническое значение лишь тогда, когда оно значительное и выявляется при повторных исследованиях. Лейкоцитоз бывает:

1. перераспределительным – лейкоциты поступают в периферическую кровь из кровяных депо в результате сосудистых реакций
2. реактивным – реакция органов лейкопоеза на инфекции, интоксикации, аллергический процесс

Кроме того, лейкоцитоз бывает физиологическим и патологическим.

К физиологическим лейкоцитозам относят:

1. *Пищеварительный* лейкоцитоз достигает максимума через 2-3 ч после приема корма. У лошадей и собак зависимость между качеством корма и характером лейкоцитоза выражена. Хорошо, у жвачных пищеварительный лейкоцитоз не наблюдают.

2. *Миогенный* лейкоцитоз бывает тем значительнее, чем тяжелее и продолжительнее мышечная работа. Вначале число лейкоцитов увеличивается за счет лимфоцитов; при длительной работе нарастает и нейтрофильная группа лейкоцитов.

3. Лейкоцитоз *беременных*. Во время беременности увеличивается число лейкоцитов, главным образом нейтрофильной группы. После родов количество их в крови восстанавливается в течение первой послеродовой недели. Происхождение лейкоцитоза в данном случае связано с эндокринными сдвигами в организме беременной самки, усилением функций всех физиологических систем, в том числе и кроветворного аппарата.

4. Лейкоцитоз *новорожденных*. Непосредственно после рождения количество лейкоцитов в крови у новорожденных бывает иногда в 2 раза больше, чем у взрослых животных, а затем в течение 2 нед выравнивается. Вначале лейкоцитоз носит нейтрофильный характер, а через 2-3 нед увеличивается число лимфоцитов.

Патологические лейкоцитозы:

1. Лейкоцитоз является постоянным спутником большинства *инфекционных* болезней. Выраженность его зависит от характера болезни и реактивности организма. Резко выраженный лейкоцитоз свидетельствует о хорошей реактивности организма, а незначительное увеличение белых кровяных телец при наличии тяжелого патологического процесса - об угнетении кроветворного аппарата.

2. *Воспалительные* процессы в отдельных органах.

3. Лейкоцитоз вызывают некоторые *химические* агенты (токсический), в том числе и лекарственные вещества (антипирин, камфора, эфирные масла,

адреналин и др.), парентеральное введение чужеродных белков, продукты распада тканей, воздействие малых и средних доз ионизирующей радиации.

4. Острые и хронические *лейкозы*. Лейкоцитоз за счет появления в крови патологических незрелых форм лейкоцитов.

5. *Постгеморрагический* лейкоцитоз наблюдается после значительных кровопотерь. Возникает от раздражающего действия на костный мозг гипоксемии, а при внутренних кровотечениях- влиянии на него продуктов распада эритроцитов и лейкоцитов.

Лейкопения - уменьшение числа лейкоцитов в крови ниже нормы для животного данного вида. Отмечают равномерное уменьшение всех видов лейкоцитов или преимущественно какого-либо одного вида белых кровяных клеток.

Физиологическая лейкопения кратковременно наблюдается при возбуждении блуждающего нерва, что ведет к расширению сосудов и оттока в них крови (у людей – после горячих ванн и сильных отрицательных эмоций).

Патологическая лейкопения отмечается при многих инфекционных заболеваниях и обуславливается угнетением лейкопоза под влиянием токсинов. Она возможна и в том случае, если убывает белых кровяных телец больше, чем их образуется. Причиной лейкопенической картины крови бывает и образование специфических по отношению к лейкоцитам антител - лейкоагглютининов, вызывающих массовую гибель белых кровяных телец. Лейкопеническая картина крови наблюдается при чуме свиней, сальмонеллезе телят, повальном воспалении легких, отравлении мышьяком, бензолом, сульфаниламидами, облучении большими дозами рентгеновских лучей, воздействии ионизирующей радиации. Понижается содержание лейкоцитов при алиментарной дистрофии, недостатке в организме белков, аминокислот, витаминов, хроническом гастрите, язве желудка, холецистите.

При заболеваниях, для которых характерен лейкоцитоз, лейкопения указывает на пониженную резистентность организма, что может наблюдаться у старых и истощенных животных, при тяжелом течении болезни. при

ухудшении состояния животного, когда организм теряет иммунную сопротивляемость, лейкопения является показателем неблагоприятного течения заболевания.

Тромбоциты – кровяные пластинки, которые являются цитоплазматическими осколками гигантских клеток костного мозга – мегакариоцитов. В нативной крови тромбоциты представляются маленькими серыми образованиями со светлым наружным и темным внутренним слоями. Наиболее крупные тромбоциты у лошади и у собаки, самые маленькие – у овцы и свиньи. В окрашенных мазках тромбоциты имеют различную величину и форму (круглую, овальную, угловатую). У лошади три вида тромбоцитов – круглые, овальные и веретенообразные. У птиц они крупные, веретенообразные, с большим овальным ядром. Тромбоциты играют большую биологическую роль в процессах гомеостаза. Благодаря большому количеству ферментов а также фибринотромбопластическим, антигепариновым, ретрактильным, сосудосуживающим свойствам они играют большую роль в свертывании крови. В периферической крови тромбоциты находятся 5-8 дней, ежедневно обновляется 12-20% тромбоцитов.

Увеличение количества тромбоцитов называется **тромбоцитоз**. Физиологический тромбоцитоз отмечают после мышечной работы, при возбуждении симпатической нервной системы вследствие выхода тромбоцитов из селезенки.

Патологический тромбоцитоз наблюдается при постгеморрагических анемиях, во время и после кровотечения, травмах с разрывом мышц, ожогах, асфиксии, сепсисе, гнойных процессах, злокачественных опухолях. Кроме того, тромбоцитоз возникает при ряде инфекционных заболеваний (мыт, туберкулез), пневмонии, особенно в период выздоровления. Удаление селезенки приводит или к длительному (при заболеваниях кроветворных органов) или недолгому (при разрывах селезенки) тромбоцитозу вследствие прекращения тормозящего влияния селезенки на костный мозг. Особенно выраженный тромбоцитоз отмечается при хроническом миелолейкозе.

Уменьшение содержания тромбоцитов называется **тромбоцитопения**. Физиологическая тромбоцитопения отмечается после введения гистамина, при возбуждении парасимпатической нервной системы. Патологическая тромбоцитопения – при экзогенных и эндогенных интоксикациях, инфекционной анемии, аллергиях, возникающих от введения лекарственных веществ. Резкая тромбоцитопения обуславливает возникновение геморрагического диатеза, который проявляется кровоточивостью и образованием кровоподтеков.

6.6 Изменения лейкограммы

Патологический лейкоцитоз может проявляться преимущественно увеличением какого-либо одного вида белых кровяных телец. Каждый вид лейкоцитоза бывает абсолютный и относительный. **Абсолютный** видовой лейкоцитоз характеризуется увеличением числа лейкоцитов данного вида при нормальном или повышенном содержании лейкоцитов крови; **относительный** – уменьшением общего количества лейкоцитов с преобладанием данного вида лейкоцитов за счет уменьшения числа других, хотя абсолютное число преобладающего вида остается в норме.

Нейтрофильный лейкоцитоз (нейтрофилия) наблюдают при многих острых инфекционных болезнях. В крови увеличивается содержание палочкоядерных, а также юных нейтрофилов, иногда появляются миелоциты. Особенно их много при миелоидном лейкозе. Нарастание в лейкоцитарной формуле молодых нейтрофилов называют ядерным сдвигом влево. Появление в периферической крови юных, увеличение количества палочкоядерных при повышенном общем числе лейкоцитов свидетельствуют об усиленной деятельности костного мозга. Такие изменения в составе лейкоцитов называют регенеративным сдвигом.

Нейтрофилия с **простым регенеративным сдвигом** проявляется повышением процента палочкоядерных нейтрофилов (до 10-13%) при незначительном увеличении общего количества лейкоцитов. Она наблюдается

при легком течении гнойно-воспалительных процессов и нетяжелых инфекционных болезней.

Нейтрофилия с **резким регенеративным (гиперрегенеративным) сдвигом** проявляется появлением в лейкограмме юных и миелоцитов, повышением процента палочкоядерных нейтрофилов при значительном лейкоцитозе. Она наблюдается при тяжелых септических инфекциях и гнойно-воспалительных процессах.

Если при возрастании количества палочкоядерных общее число лейкоцитов в крови уменьшается, говорят о **дегенеративном сдвиге**, наличие которого является отражением угнетения функции костного мозга. Если сдвиг влево сочетается с дегенеративными изменениями лейкоцитов (токсическая зернистость, вакуолизация цитоплазмы и ядра, сморщивание лейкоцитов, лейколиз), говорят о регенеративно-дегенеративном сдвиге. Дегенеративные изменения бывают не только у нейтрофилов, но и у других лейкоцитов. Эта разновидность нейтрофилии наблюдается при длительных тяжелых септических состояниях.

Кроме того, может наблюдаться заметное возрастание процента только сегментоядерных нейтрофилов, т.е. происходит ядерный сдвиг «вправо». Такая нейтрофилия отмечается после кровопотерь, у старых и истощенных животных.

Нейтропения - уменьшение в крови нейтрофильных лейкоцитов, возникает в результате угнетения кроветворной функции костного мозга под влиянием инфекционных и токсических агентов. Функциональная нейтропения отмечается при алиментарной дистрофии, инфекционных заболеваниях, после больших доз радиации. Смена нейтропении нейтрофилезом, а лейкопении лейкоцитозом говорит о возникновении осложнения (пневмонии, перитонита). Нейтропения может отмечаться при применении антибиотиков, сульфаниламидов. У людей – после приема пищи. Стойкая органическая нейтрофилия указывает на злокачественные заболевания крови.

Эозинофильный лейкоцитоз (эозинофилия) характеризуется высоким содержанием в крови эозинофилов. Эозинофилия - типичная картина крови при инвазионных болезнях, а также болезнях аллергического происхождения. При роже свиней число эозинофилов в крови может достигать, например, 45% всех лейкоцитов. Количество эозинофилов в крови увеличивается при лечении пенициллином, стрептомицином, печеночными и некоторыми другими препаратами (лекарственная эозинофилия), при микозах, хронической альвеолярной эмфиземе, хроническом бронхите. Она является одним из начальных признаков лимфогранулематоза, отмечается при миелолейкозе, злокачественных опухолях. Эозинофилия отмечается при переходе острого процесса в хронический. Появление эозинофилов в крови или небольшая эозинофилия после их исчезновения при интоксикациях и инфекционных заболеваниях свидетельствует о начавшемся выздоровлении и является благоприятным прогностическим симптомом.

Уменьшение числа эозинофилов в крови (**эозинопения**) бывает в стадии полного развития многих инфекционных болезней. Полное отсутствие эозинофилов в крови (**анэозинофилия**) является неблагоприятным показателем течения болезни. Наоборот, появление эозинофилов в крови на высоте болезненного процесса считается благоприятным признаком в прогнозе исхода болезней. Возникновение эозинопении в сочетании с нейтрофилией указывает на хорошую реакцию органов гемопоэза. Если отмечают эозинопению с лейкопенией или слабой нейтрофилией. Это рассматривают как неблагоприятный признак.

Базофильный лейкоцитоз (**базофилия**) - повышенное содержание в крови базофилов, у животных встречается редко. Значительное увеличение числа базофилов в крови бывает при миелоидном лейкозе, лимфогранулематозе, диабете, гипотиреозе, гемофилии, аллергических состояниях, после подкожного введения сывороток. Базофилия может сопровождать эозинофилию при гельминтозах.

Базопения в ветеринарии не получила диагностического подтверждения. В медицине наблюдается при гипертиреозах и аллергических кризах.

Лимфоцитоз - абсолютное или относительное увеличение количества лимфоцитов в крови. У крупного рогатого скота высокое содержание лимфоцитов в крови является видовой особенностью этих животных. Физиологический лимфоцитоз появляется после мышечного напряжения, поедания кормов с большим содержанием жира, во время пребывания в высокогорной местности. У людей отмечают после физической работы и спортивных нагрузок, при преобладании в пище углеводов. Патологический лейкоцитоз отмечается при скрытых заболеваниях без лихорадки, алиментарной дистрофии, действии рентгеновских и ультрафиолетовых лучей, чуме свиней, эндокринных заболеваниях, пониженной функции яичников. Лимфоцитоз при нормальном или повышенном количестве лейкоцитов сопровождает туберкулез, бруцеллез, лимфолейкоз, ожоги кожи, сахарный диабет, тиреотоксикоз.

Отмечается взаимосвязь между числом лимфоцитов и эритроцитов в крови. Если лимфоцитоз сочетается с нормальным содержанием эритроцитов – это благоприятный симптом. Если лимфоцитоз сопровождается олигоцитемией – это неблагоприятный симптом, указывающий на усиление интоксикации организма

Уменьшение в крови числа лимфоцитов (**лимфоцитопения**) бывает абсолютной и относительной. Абсолютная лимфопения происходит при истинном снижении процентного количества лимфоцитов и уменьшении их в единице объема крови (лейкопения). Относительная лимфопения процент лимфоцитов понижен на фоне повышения общего числа лейкоцитов. Абсолютная лимфоцитопения - показатель угнетения лимфатического аппарата, что является неблагоприятным признаком. Чаще наблюдается относительная лимфопения при значительной нейтрофилии - при туберкулезе, гнойных и септических процессах, кровопятнистой болезни, начальной стадии

чумы свиней при сильном воздействии на организм ионизирующей радиации (лучевая болезнь).

Моноцитоз - абсолютное или относительное увеличение количества моноцитов. Моноцитоз рассматривают как один из показателей повышения функции ретикулоэндотелиальной системы. Увеличение числа моноцитов характерно для хронических инфекционных и протозойных болезней, его наблюдают и в стадии выздоровления от острых инфекционных болезней и при иммунизации.

Моноцитопению - уменьшение в крови числа моноцитов - рассматривают как показатель угнетения ретикулоэндотелиальной системы. Сильно выраженная моноцитопения - показатель пониженной резистентности организма, отмечается при острых тяжелых септических заболеваниях.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что входит в физическое исследование крови?
2. Какими способами определяется СОЭ?
3. В каких случаях изменяется СОЭ?
6. Как определяется вязкость крови?
7. Как определяется скорость свертывания крови?
8. Какие показатели определяются при биохимическом исследовании крови?
9. Какие нарушения белкового обмена определяют при исследовании крови?
10. Какие нарушения углеводного обмена определяют при исследовании крови?
11. Какие нарушения жирового обмена определяют при исследовании крови?
12. Какие нарушения минерального обмена определяют при исследовании крови?
13. Что относится к морфологическому исследованию крови?
14. Методика подсчета эритроцитов.
15. Методика подсчета лейкоцитов.
16. Методика подсчета тромбоцитов.

7. ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНО-МОЗГОВОГО ПУНКТАТА

Показания для исследования костно-мозгового пунктата. Гематопоз — это термин, используемый для описания процесса продукции клеток крови. Клетки крови всех типов вырабатываются внутри костного мозга, хотя развитие лимфоцитов наблюдается, преимущественно, в периферических лимфоидных тканях. У здорового взрослого животного гематопоз ограничивается деятельностью красного костного мозга, который находится в плоских костях, а так же в проксимальных частях костномозговых полостей в длинных губчатых костях, особенно в плечевых и бедренных. Если потребность в клетках крови возрастает, может быть возобновлена деятельность неактивного желтого костного мозга в других местах. Кроме того, печень и селезёнка также сохраняют способность вырабатывать клетки крови, если костный мозг не способен удовлетворять потребности: производство клеток крови этими органами носит название экстрамедуллярного гемопоэза.

Пробы костного мозга могут быть взяты либо аспирацией с помощью тонкой иглы, либо путём биопсии. Аспираты с помощью тонкой иглы получить легко: их преимущество состоит в том, что можно быстро провести цитологическое исследование. В тех случаях когда повторные попытки получить аспират оканчиваются неудачей, показано применение пункционной биопсии. Такие состояния, как миелофиброз, могут быть определены только с помощью гистологического анализа ткани, полученной путём биопсии.

Оценка костного мозга должна всегда производиться в сочетании с гемограммой, количественным и качественным исследованием крови. Предоставляя пробы костного мозга для патологического исследования, очень важно дать при этом подробную клиническую историю с полным перечнем гематологических результатов и с указанием всех биохимических отклонений от нормы.

Показания для отбора проб костного мозга

- Панцитопения (снижение количества всех клеток всех линий)
- Цитопения, воздействующая на любую отдельную линию клеток, или бицитопения, например нейтропения, тромбоцитопения или анемия, особенно негенеративная
- Наличие ненормальных, недоразвитых или нетипичных лимфоидных или миелоидных (гранулоцитарных) клеток
- Ненормально высокое количество клеток любой линии
- Многоочаговая лимфома
- Гиперпротеинемия, связанная либо с моноклональной либо с поликлональной гаммопатией
- Гиперкалиемия неясного происхождения

Методика взятия костно-мозгового пунктата.

Методика аспирации и биопсии, применяемая в Великобритании.

Оборудование для отбора проб костного мозга. Для отбора проб костного мозга необходимы специальные иглы со стилетом. Наиболее часто используются следующие виды игл:

1. Иглы Клима, размером 16 или 18 и длиной 28 или 37 мм. Эти хирургические стальные иглы можно повторно стерилизовать неограниченное число раз, хотя иногда может потребоваться периодическая заточка. Более длинную иглу можно использовать фактически для всех мелких животных.
2. Сменные иглы. Такие, как сменные модифицированные Иллинойские иглы Джемшиди для грудной и подвздошной костномозговой аспирации (рис. 2), используются в диапазоне размеров 15 или 18, длина 60-80 мм.
3. Иглы Джемшиди с минимальным диаметром 14 размера требуются для выполнения пункционной биопсии. Длина их составляет 95 мм. В некоторых странах используется сменный вариант игл с таким широким диаметром.

Аспирация костного мозга. Обычно в качестве места, в котором производится аспирация костного мозга, выбирается подвздошный гребень. В качестве альтернативы могут быть выбраны ягодичная поверхность крыла подвздошной кости, вертлужная впадина и проксимальная часть плечевой кости (рис. 4). У карликовых собак и кошек предпочтительно выбрать вертлужную впадину. У животных с сильным ожирением иногда полезно выбрать большеберцовый гребень.

Подготовка. На чистой поверхности размещают несколько чистых предметных стекол, установив их почти вертикально. Подготовить второй набор предметных стекол, пригодных для приготовления мазков. Необходимо 2 помощника: один фиксирует животное, в то время как другой помогает готовить мазки (если пробы успели свернуться до изготовления мазка, то результаты трудно или невозможно интерпретировать).

Фиксация больного животного. Как аспирация костного мозга, так и пункциональная биопсия могут быть выполнены под местной анестезией и с применением легких седативных средств (используя комбинации нейролептоанальгетиков). Местную анестезию следует применять всегда, когда нет ограничений на использование химических средств для фиксации. Для собак карликовых пород и для кошек, у которых отбор проб производится через вертлужную впадину, предпочтительно проводить эту процедуру под общим наркозом из-за близости седалищного нерва к месту биопсии. А также из-за того, что требуется обеспечить неподвижность.

Методика. Уложить животное в положение лежа на груди с согнутыми и поджатыми лапами, подобной позе сфинкса (рис. 5). Нашупать пальцами подвздошный гребень. Выстричь участок и подвергнуть его асептической обработке. Инфильтровать кожу и подкожный слой над подвздошным гребнем средством местной анестезии, пользуясь иглой 23 размера длиной 25 мм. Вводить иглу до тех пор, пока она не упрется в кость, затем местное обезболивающее средство должно быть введено в надкостницу. Это очень важно, поскольку в противном случае процедура будет болезненной.

Сделать с помощью скальпеля небольшой колотый разрез кожи, покрывающей это место. Крепко удерживая левой рукой подвздошный гребень, ввести иглу сквозь подкожную клетчатку и мышцы до тех пор, пока она не коснется кости. Вращать иглу, сильно нажимая на нее при этом. В это время очень важно не изменять направление движения иглы: она должна быть расположена вертикально, либо слегка наклонена в вентро-медиальном направлении. После того, как игла пройдет через компактный слой кости, она должна быть плотно зажата внутри подвздошной кости. Затем вынимают из аспирационной иглы стилет, присоединяют к игле шприц на 10 или 20 мл и создать отрицательное давление. На этой стадии животное может ощутить временное неудобство. Как только в шприце появится небольшое количество кровянистой жидкости, аспирацию следует прекратить. В противном случае собранный костный мозг окажется излишне разбавленным кровью.

Извлечь шприц и иглу как единое целое, не разъединяя их. Нанести каплю костного мозга на верхнюю часть каждого предметного стекла. Небольшие спиккулы костного мозга остаются прилипшими к стеклу после того, как кровь стечет вниз под действием силы тяжести. Очень важно быстро изготовить мазки. Надо взять одно из предметных стекол с костным мозгом и наложить на него поперек под прямым углом второе предметное стекло. Приложив небольшое усилие, быстро провести вторым (верхним) предметным стеклом по пробе, находящейся на первом предметном стекле. Так создается мазок на нижней стороне второго предметного стекла. Мелкие частицы бледного оттенка на предметном стекле принадлежат костному мозгу. После этого закрыть колотый разрез одним швом.

Неудачный попытки аспирации костного мозга. Причинами могут быть:

1. Неудачное выполнение:

1. игла не полностью прошла через ближний компактный слой кости; если это так, снова вставьте стилет и продвиньте иглу дальше перед тем, как снова попытаться провести аспирацию;

2. игла могла войти в противоположный компактный слой кости; в этом случае следует постепенно извлекать иглу до тех пор, пока не окажется возможной аспирация.
2. Миелофиброз. В этой ситуации внутри костномозговой полости может находиться увеличенная масса фиброзной ткани, которая может препятствовать аспирации гематopoэтических элементов.
3. Миелофтиз. Костный мозг, который «вытеснен» клетками новообразования, может оказаться не в состоянии выработать клетки, необходимые для диагностики.
4. В тех случаях, когда повторяющиеся попытки провести аспирацию костного мозга окажутся безуспешными, показано осуществить пункционную биопсию костного мозга.

Методика пункционной биопсии костного мозга, используемая в Великобритании. Для этой процедуры необходима игла Джемшиди. Животное укладывают и подготавливают как для выполнения аспирации костного мозга. Иглу Джемшиди вводят сквозь наружный покров гребня подвздошной кости описанным выше способом. Стиллет вынимают и полую иглу продвигают еще на 1-2 см внутрь полости кости. Затем иглу быстро вращают в одном направлении, не прикладывая при этом давления: это движение отрезает столбик костного мозга от его основания. Игла извлекается из кости. После этого с помощью тупоконечного зонда выталкивают вырезку через ближайший конец иглы. Игла имеет небольшую конусность и, выталкивая пробу через дальний конец, можно сильно смять его. И в этом случае колотый разрез закрывается одиночным швом. Вырезка фиксируется в 10 %-ном растворе формалина.

Приготовление проб.

Аспираты перед отправкой в лабораторию должны быть просушены и зафиксированы в метиловом спирте в течение 3 минут. Для выполнения специальной окраски необходимо представить 2 или более предметных стекла. Часто имеет смысл использовать быстрое окрашивание на месте.

Биоптат костного мозга должен быть зафиксирован в формалине и отправлен в лабораторию обычным способом.

Техника костномозгового (стернального) пунктата в нашей стране.

В нашей стране костномозговой пунктат чаще получают из 2-3-го сегментов грудной кости, иногда из ребер или подвздошной кости. Животных фиксируют в лежащем боковом положении. Рекомендуется применять анестезию (новокаиновую блокаду). В области второго-третьего сегмента грудной кости выстригают шерсть. Кожу дезинфицируют 70 %-ным спиртом. Используют шприц на 20 мл и иглу ИС-2 или иглу конструкции В. С. Кондратьева, С. П. Ковалева. Инструменты стерилизуют кипячением, высушивают в термостате и перед получением пунктата увлажняют раствором гепарина или 3,8 %-ным раствором цитрата натрия.

Иглу вводят снизу вверх, отступая от середины сегмента в сторону на 1-2 см. Проколов кожу, подкожную клетчатку и слой грудных мышц, достигают грудной кости. Применив некоторое усилие, прокалывают надкостницу, компактную часть кости, и попадают в губчатую часть сегмента (при этом осуществляется своеобразный хруст). Извлекают мандрен, присоединяют шприц и энергично аспирируют костный мозг. Пунктат берут в объеме не более 0,2-0,3 мл, чтобы избежать примеси большого количества крови. Как только в шприце появился пунктат, взятие пробы заканчивают. В заключение место прокола повторно обрабатывают место прокола спиртом. Полученный пунктат помещают на парафиновое часовое стекло и сразу готовят мазки на подогретых предметный стеклах. Мазки высушивают, фиксируют и окрашивают по методу Паппенгейма.

Исследование костномозгового пунктата.

Чтобы определить процентное соотношение клеточных элементов в костном мозге (вывести миелограмму), подсчитывают 500-1000 клеток (лучше в той части, где мазок не очень густой). Количество гемоглобина определяют по общепринятой методике. Чтобы подсчитать эритроциты в $1 \cdot 10^{-3}$ мл пробы

в пробирку, содержащую 4 мл изотонического раствора хлорида натрия, пипеткой от гемометра Сали добавляют 0,2 мл пунктата (разведение 1:200). Чтобы определить количество миелокариоцитов (всех ядродержащих клеток стерильного пунктата) в другую пробирку с 2 мл жидкости Тюрка вносят 0,02 мл пунктата (разведение 1:100). Клетки подсчитывают обычным методом в счетной камере Горяева.

Исследование морфологического состава периферической крови не всегда в достаточной мере отражает характер изменений в органах гемопоэза. Это имеет отношение к дифференциальной диагностике гемобластозов. В частности, при алейкемических вариантах гемобластозов, когда клеточный состав крови не изменен или эти изменения незначительны, в костном мозге находят существенные изменения.

В костном мозге находятся стволовые клетки, из которых развиваются все виды форменных элементов крови. Исследование костного мозга позволяет определить его функциональное состояние.

Усиление костномозгового кроветворения проявляется поступлением в кровь незрелых клеток и возникает при кровопотерях, повышенном разрушении эритроцитов, нарушении газообмена, инфекциях, инвазиях и отравлениях.

Понижение костномозгового кроветворения возникает под воздействием физико-химических факторов, токсинов и характеризуется уменьшением количества клеток миелопоэза (эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов) или снижением числа какого-либо одного вида их.

Извращение костномозгового кроветворения связано с инфекциями и интоксикациями и выражается появлением в крови клеток измененного вида. При исследовании костномозгового пунктата выявляют нарушения кроветворения на основании определения соотношения между количеством клеток разных видов и их зрелостью.

В пунктате устанавливают количество эритроцитов, миелокариоцитов (ядродержащих клеток) и гемоглобина, а в мазках (после окраски по

Паппенгейму) подсчитывают миелограмму. При анализе миелограммы определяют количественные сдвиги между клетками разной степени зрелости эритропоэза и лейкопоэза, изменение отношения между количеством элементов лейкопоэза и числом ядерных форм эритропоэза.

Увеличение количества клеток костного мозга за счет эритроцитарных элементов свидетельствует о гиперплазии эритроцитарного ростка, что может быть обусловлено кровопотерями, гемолизом, В12-дефицитной анемией. Если находят одновременное уменьшение количества клеток эритро- и лейкопоэза, то соотношение между ними может остаться без изменения, что бывает при гипопластических и апластических анемиях. При гиперплазии миелоидных элементов костного мозга отмечают выраженный сдвиг лейкоэритробластического соотношения в сторону лейкоцитарного ростка (миелопролиферативные процессы), что может быть при инфекциях, интоксикациях, гемобластозах.

Вопросы для самоконтроля:

1. Откуда получают костно-мозговой пунктат у животных и птиц?
2. Чем и в каком количестве получают костно-мозговой пунктат?
3. Что определяют при исследовании костно-мозгового пунктата?
4. Какие клетки крови содержатся в костномозговом пунктате у здоровых животных?
5. Какое клиническое значение исследования костно-мозгового пунктата?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессарабов, Б.Ф. Лабораторная диагностика клинического и иммунобиологического статуса у сельскохозяйственной птицы : учебник / Б.Ф. Бессарабов, С.А. Алексеева, Л.В. Клетикова. - М. : КолосС, 2008. - 151 с.
2. Клиническая диагностика внутренних болезней животных [Электронный ресурс]: учебник / под ред. С.П. Ковалёва, А.П. Курденко, К.Х. Мурзагулова. - Электрон. текст. дан. - СПб.: Лань, 2014. - 544 с. - Режим доступа: [www. e. lanbook.com](http://www.e.lanbook.com). - Загл. с экрана.
3. Лабораторная диагностика вирусных болезней животных [Электронный ресурс] : учеб. пособие / сост. П.И. Барышников, В.В. Разумовская. - Электрон. текст. дан. - СПб. : Лань. 2015. – 672 с. - Режим доступа : [www. e. lanbook.com](http://www.e.lanbook.com). - Загл. с экрана.
4. Лабораторная диагностика вирусных болезней животных : учеб. пособие / сост.: П.И. Барышников , В.В. Разумовская. - 2-е изд., испр. - СПб. : Лань, 2015. - 672 с.
5. Медведева, М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика : Справочник для ветеринарных врачей / М.А. Медведева. - М. : Аквариум, 2008. - 416 с.

Шулепова Ирина Ивановна

Лабораторная диагностика: учебное пособие для обучающихся направления
36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза ФГБОУ ВО Приморская ГСХА

Подписано в печать _____ 2019 г. Формат 60x90 1/16. Бумага писчая.

Печать офсетная. Уч.-изд. л. _____. Тираж _____ экз. Заказ _____