

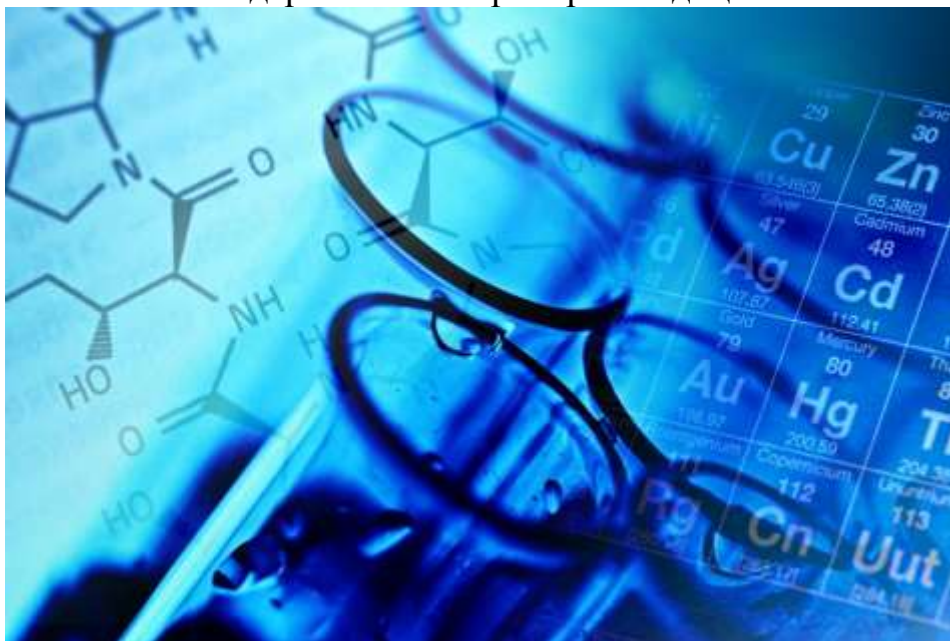
МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАКЛАД ВИЩОЇ ОСВІТИ «ПОДІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ»
ФАКУЛЬТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ І ТЕХНОЛОГІЙ У
ТВАРИННИЦТВІ

Кафедра гігієни тварин та
ветеринарного забезпечення
кінологічної служби
Національної поліції України

Методичні рекомендації

до лабораторних занять з дисципліни «Ветеринарна клінічна біохімія».

Змістовний модуль 1. Для здобувачів вищої освіти другого
(магістерського) рівня вищої освіти за спеціальністю Н 6 (211)
«Ветеринарна медицина», галузі знань Н «Сільське, лісове, рибне
господарство та ветеринарна медицина»



м. Кам'янець – Подільський
2026 р.

УДК 619:616-07(075)

Укладач:

Тетяна ТОКАРЧУК, кандидатка сільськогосподарських наук, доцентка кафедри гігієни тварин і ветеринарного забезпечення кінологічної служби Національної поліції України

*Рекомендовано до друку науково – методичною радою Закладу вищої освіти «Подільський державний університет»
(протокол № 2 від 25.03. 2026 р.)*

Рецензенти:

Анатолій ЛАВСЬКИЙ Начальник Кам'янець-Подільського районного управління Головного управління Держпродспоживслужби в Хмельницькій області

Любов САВЧУК завідувачка кафедри нормальної та патологічної морфології і фізіології, кандидатка с.- г. наук, доцентка

Методичні рекомендації до лабораторних занять з дисципліни «Ветеринарна клінічна біохімія» для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня вищої освіти за спеціальністю Н 6 (211) «Ветеринарна медицина», галузі знань Н «Сільське, лісове, рибне господарство та ветеринарна медицина» / Тетяна ТОКАРЧУК, Кам'янець-Подільський: ЗВО «ПДУ», 2026. 32 с.

Методичні рекомендації розроблені з метою полегшити вивчення навчальної дисципліни здобувачами при проходженні лекційного матеріалу та лабораторних занять. Містять передмову, матеріали тем, які виносяться на опрацювання, що представляють основу методичних рекомендацій, перелік запитань для самоконтролю та список використаної літератури.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
Тема 1. ПАТОЛОГІЯ ВУГЛЕВОДНЕВО-ЛІПІДНОГО ОБМІНУ.....	6
1.1. Визначення глюкози за кольоровою реакцією з орто-толуїдином.....	15
1.2. Визначення глюкози у плазмі крові глюкозо-оксидазним методом.....	16
1.3. Експрес-метод виявлення ацетонових тіл у сироватці (плазмі) крові.....	19
1.4. Визначення рівня загальних ліпідів в сироватці крові по кольоровій реакції з сульфованіліновим реактивом (по Целнеру—Киршу).....	20
Тема 2. ПОРУШЕННЯ ВОДНО-ІОНОГО ОБМІНУ ТА КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО БАЛАНСУ	24
2.1. Алгоритм розрахунку дефіциту рідини	25
Тема 3. ПОРУШЕННЯ МІНЕРАЛЬНОГО ОБМІНУ ТА ВІТАМІНІВ.....	26
3.1. Визначення каротину і вітаміну А в сироватці крові.....	26
3.2. Біохімічні методи діагностики порушення обміну мінеральних речовин.....	28
4. Рекомендована література.....	33

ВСТУП

Протягом останніх десятиліть клінічна ветеринарна медицина трансформувалася завдяки активному впровадженню лабораторних методів, де біохімічні дослідження посідають провідне місце. Фундаментальна біохімія розкрила складні механізми обміну речовин і хімічну природу життя, що дало ветеринарним фахівцям інструменти для наукового обґрунтування патогенезу, ранньої діагностики та моніторингу лікувального процесу.

Однак базовий курс біохімії тварин фокусується переважно на фізіологічній нормі метаболізму, чого недостатньо для повноцінної лікарської практики. Саме тому виникла необхідність у виокремленні **клінічної біохімії** як самостійної дисципліни. Вона стала містком між теоретичними знаннями та клінічною практикою, вивчаючи біохімічні особливості організму в умовах патології.

Клінічна біохімія – це наука, яка вивчає біохімічні процеси при різних хворобах тварин, що сприяє глибокому пізнанню суті і патогенезу хвороби, дає можливість діагностувати ранні стадії розвитку патологічного процесу, науково обґрунтовувати методи лікування хворих і контролювати його ефективність, прогнозувати перебіг і закінчення хвороби.

Розвиток клінічної біохімії можливий лише у тісному контакті з клінікою, при постійному порівнянні отриманих результатів із симптомами і перебігом хвороби. Це упевнює в тому, що ветеринарна медицина майбутнього як і гуманна, буде наукою точною, у якій надзвичайно важлива роль належатиме уніфікованим, стандартизованим і максимально автоматизованим біохімічним і біофізичним методам дослідження. Хоча очевидним є й те, що вона не буде позбавлена утаємниченого у нашій професії – лікарської інтуїції.

Клінічна біохімія є фундаментальним компонентом підготовки ветеринарного фахівця, оскільки саме розуміння динаміки біохімічних процесів дозволяє сформувати професійне клінічне мислення. Володіння цими знаннями є критично важливим для точної діагностики, прогнозування перебігу хвороби та розробки науково обґрунтованої стратегії лікування. Крім того, дисципліна надає інструменти для об'єктивної оцінки ефективності терапії та коректної інтерпретації лабораторних показників.

Предмет складається з двох частин – загальної клінічної біохімії та клінічної біохімії окремих органів при патологічних процесах.

Ефективне вивчення клінічної біохімії неможливе без знань з органічної, фізичної та біохімії, оскільки саме вони дозволяють ветеринарному лікарю фахово аналізувати зміни показників у хворих тварин. Дисципліна тісно переплітається з патофізіологією, фармакологією та діагностикою, створюючи базис для розуміння природи інфекційних і неінфекційних процесів. Зрештою, саме цей комплекс знань дозволяє студенту розвинути аналітичне мислення, необхідне для встановлення діагнозу.

Тема 1. ПАТОЛОГІЯ ВУГЛЕВОДНЕВО-ЛІПІДНОГО ОБМІНУ.

Мета заняття: Розширити комплексні знання про метаболічні шляхи синтезу і розпаду ліпідів та вуглеводів у нормі та при патології. Вивчити клінічну лабораторну діагностику при порушеннях ліпідного та вуглеводного обміну.

Методичні вказівки. Вуглеводи (цукри) — це широка група органічних сполук, що за своєю хімічною структурою є полігідроксиальдегідами або полігідроксикетонами. Вони складаються з вуглецевого скелета, до атомів якого приєднані кілька спиртових гідроксильних груп (–ОН) та обов'язкова карбонільна група (альдегідна або кетонна). Саме така будова зумовлює їхню високу реакційну здатність та ключову роль у метаболізмі живих організмів.

Вуглеводи у лабораторній діагностиці.

У сучасній ветеринарній клінічній практиці, а також під час проведення наукових досліджень, якісний та кількісний аналіз вуглеводів є обов'язковим етапом обстеження тварини. Дослідження субстратів вуглеводного обміну дозволяє отримати об'єктивну картину енергетичного статусу організму.

Ключові показники вуглеводного обміну:

- **Глюкоза крові:** основний інтегральний показник, що відображає баланс між надходженням, синтезом та використанням цукрів.
- **Проміжні продукти метаболізму:** визначення рівня **молочної (лактату)** та **піровиноградної (пірувату)** кислот дозволяє оцінити інтенсивність гліколізу та наявність кисневого голодування тканин (гіпоксії).

- **Кетонові тіла:** їх моніторинг є критично важливим для діагностики кетозу в продуктивних тварин, що виникає при порушенні окиснення вуглеводів та жирів.
- **Тканинні запаси:** визначення вмісту **глікогену** в клітинах печінки та крові дає уявлення про резервні можливості організму.

Тільки комплексне поєднання цих даних з іншими клінічними симптомами дозволяє лікарю ветеринарної медицини встановити точний діагноз та розробити ефективну схему лікування. Глюкоза як центральний вузол метаболізму

Глюкоза є найважливішим енергетичним субстратом для клітин. Вона забезпечує життєдіяльність головного мозку, еритроцитів та м'язової тканини. Важливо зазначити, що у загальному складі низькомолекулярних вуглеводів крові на частку глюкози припадає понад **90%**, що робить її головним об'єктом дослідження.

Гормональна регуляція глікемії.

Підтримання відносно стабільної концентрації глюкози (гомеостазу) є життєво необхідним процесом. У здоровому організмі тварини цей рівень контролюється складною системою нейрогуморальної регуляції:

1. **Гіпоглікемічний фактор (зниження цукру):** єдиним гормоном, що ефективно знижує рівень глюкози, сприяючи її переходу в клітини та синтезу глікогену, є **інсулін**, що виробляється підшлунковою залозою.
2. **Гіперглікемічні фактори (підвищення цукру):** ціла група гормонів-антагоністів інсуліну працює на мобілізацію енергії:
 - **Адреналін:** забезпечує швидкий викид глюкози під час стресу або фізичного навантаження.

- **Глюкагон:** стимулює розпад глікогену в печінці.
- **Глюкокортикоїди:** гормони кори надниркових залоз, що активують синтез глюкози з неуглеводних джерел (глюконеогенез) при тривалому голодуванні або хронічних патологіях.

Розуміння цієї тонкої рівноваги дозволяє ветеринару правильно інтерпретувати результати аналізів: чи є відхилення наслідком стресу, чи ознакою серйозного ендокринного захворювання. Вміст глюкози в крові здорових тварин (табл.1).

Таблиця 1.

Вміст глюкози в крові здорових тварин

Вид тварин	Глюкоза	
	мг/100мл	ммоль/л
Велика рогата худоба	45–60	2,5–3,3
Вівці	45–60	2,5–3,3
Свині	45–70	2,5–3,9
Коні	55–90	3,0–5,0
Собаки	60–80	3,3–4,5
Кролі	75–95	4,2–5,3
Кури	80–140	4,5–7,8

Окрім глюкози, з метою діагностики порушень обміну вуглеводів, визначають продукти окиснення глюкози – молочну і піровиноградну кислоти.

Молочна кислота утвориться при розпаді глікогену й глюкози, її джерелом служить піруват. У нормі вміст молочної кислоти у тварин коливається в межах 0,295-0,760 ммоль/л. Підвищення вмісту молочної кислоти (гіперлактатемія) відзначається при ацидозі рубця, поїданні тваринами великої кількості буряка, зеленої маси кукурудзи молочно-

воскової спілості, зернових злакових. Підвищення концентрації лактату в крові може бути обумовлено ураженням печінки, кисневою недостатністю (гіпоксія), надмірним фізичним навантаженням, місцевим порушенням кровообігу.

Піровиноградна кислота проміжний продукт вуглеводного й білкового обмінів. При дефіциті тіаміну в крові й сечі підвищується концентрація піровиноградної кислоти з усіма наступними патологічними явищами. Нормальний вміст піровиноградної кислоти в крові коливається в межах від 0,6 до 1,7 мг %, або від 68 до 193 мкмоль/л. Її вміст у крові підвищується при гіповітамінозі В1, порушенні окисно-відновних процесів в умовах дефіциту кисню, хворобах печінки, кетозі та інш.

Кетоніві (ацетонові) тіла — група органічних сполук (β -оксималяна кислота, ацетооцетова кислота й ацетон) — проміжні продукти обміну жирів, вуглеводів і білків. Підвищення рівня кетонівіх тіл у крові, сечі, молоці й інших біологічних субстратах свідчить про порушення вуглеводного, жирового й інших видів обміну. У здорових тварин вміст кетонівіх тіл у крові 1-8 мг/100 мл (0,17-1,3 ммоль/л), у молоці 6-8 мг/100 мл (1,03-1,36 ммоль/л), у сечі 6-10 мг/100 мл (1,0-1,7 ммоль/л). Вміст ацетооцтової кислоти й ацетону в крові становить близько 15 %, а β -оксималяної кислоти - 85 % від загальної кількості кетонівіх тіл.

Ліпіди - різноманітні по структурі і функціям група природних амфіфілів. До них відносяться нейтральні жири – найбільш вигідна форма запасу енергії; фосфоліпіди – структурна основа всіх типів мембран, необхідний елемент ліпопротеїнів; холестерин – компонент мембран і попередник в синтезі жовчних кислот і стероїдних гормонів.

Загальні ліпіди крові включають: вільні (неетерифіковані) жирні кислоти, моно-, ди- і триацилгліцероли, фосфоліпіди, вільний та етерифікований холестерол. У крові ліпіди перебувають у складі ліпопротеїнів (табл.2).

Таблиця 2.

Нормативи показників ліпідного обміну у сироватці (плазмі) крові тварин (мг/100 мл)

Вид тварини	Ліпіди загальні	Фосфо-ліпіди	Триацил-гліце-роли	Вільні жирні кислоти	Холестерол загальний
ВРХ	280–600	70–250	20–50	3–15	50–140
Свині	350–400	90–200	20–80	8–20	60–110
Кури	360–2100	–	–	6–10	80–200

Примітка. Коефіцієнти перерахунку в одиниці СІ для триацилгліцеролів – 0,11; фосфоліпідів – 12,92; холестеролу – 0,026 (результат одержуємо у ммоль/л)

Оцінка ліпідного статусу організму тварин є складним багатоетапним процесом. На відміну від вуглеводів, ліпіди є гідрофобними сполуками, тому їх аналіз потребує спеціальної підготовки проб. Весь аналітичний цикл можна розділити на три ключові етапи:

1. Екстракція (виділення) ліпідів.

Першим і найвідповідальнішим етапом є повне виділення ліпідів із біологічного матеріалу. Об'єктами дослідження у ветеринарії найчастіше є сироватка або плазма крові, молоко, жовток яєць, а також біоптати органів (печінки, м'язової чи жирової тканини). **Біоптат** — це фрагмент живої тканини або окремі клітини, вилучені з організму тварини з діагностичною або науково-дослідною метою. Сам процес забору такого матеріалу називається **біопсією**.

Оскільки ліпіди міцно зв'язані з білками (у вигляді ліпопротеїнових комплексів) та іншими компонентами клітин, для їх виділення використовують **систему органічних розчинників** (найчастіше суміш хлороформу та метанолу за методом Фолча). Це дозволяє зруйнувати нековалентні зв'язки та перевести ліпіди у розчинний стан для подальшого аналізу.

2. Кількісне визначення та фракціонування.

Після отримання екстракту лікар-лаборант має два шляхи дослідження залежно від поставленої мети:

- **Визначення загальних показників:** Вимірювання сумарного вмісту ліпідів, загального холестеролу або тригліцеридів без їх попереднього розділення. Це дає загальну уяву про інтенсивність жирового обміну.
- **Фракціонування (Поділ на класи):** Для глибшого аналізу використовують метод **тонкошарової хроматографії (ТШХ)**.
 - Суть методу полягає у різній швидкості руху окремих класів ліпідів (фосфоліпідів, вільного холестеролу, вільних жирних кислот, тригліцеридів та ефірів холестеролу) по сорбенту під дією розчинника.
 - Після розділення кожену фракцію можна оцінити кількісно, що важливо для діагностики стеатозу печінки, порушень секреції молока або якості інкубаційних яєць.

3. Аналіз жирно-кислотного складу.

Найвищим рівнем дослідження ліпідного обміну є визначення якісного та кількісного складу **жирних кислот**. Це дозволяє оцінити співвідношення насичених та ненасичених (зокрема Омега-3 та Омега-6) жирних кислот у

загальних ліпідах або в окремих їх класах (наприклад, тільки у фосфоліпідах мембран).

Даний етап має критичне значення для:

- Вивчення дієтологічного впливу кормів на організм.
- Оцінки біологічної цінності тваринницької продукції.
- Виявлення прихованих порушень клітинного метаболізму та запальних процесів.

Холестерин у сироватці крові тварин перебуває у двох формах: вільній (1/3) та етерифікованій з різними жирними кислотами (2/3). Вміст рівня холестеролу в сироватці крові відображає патологію ліпідного обміну, але не дає точної діагностичної інформації про конкретне захворювання. Вважають, що гіпохолестеролемія створює умови для частішого виникнення онкопатології (або супроводжує її) табл.3.

Таблиця 3.

Клінічне значення досліджень концентрації окремих класів ліпідів

Показник и	Підвищення концентрації	Зниження концентрації
Загальні ліпіди	Гіперліпемія спостерігається при нефротичному синдромі – як наслідок мобілізації жиру, при хворобах печінки, особливо при гострому гепатиті, цукровому діабеті (унаслідок мобілізації жирів із депо у кров і транспортування їх у печінку), гіпофункції щитоподібної і статевих залоз, надниркових залоз, гіпофіза.	Гіполіпемія спостерігається при аліментарній дистрофії (в результаті виснаження жирових депо), гіпертиреозі внаслідок

		посиленого окиснення жирів.
Фосфо-ліпіди	Жирова дегенерація печінки, важка форма цукрового діабету, нефроз й нефрит, постгеморагічна анемія.	Гострий і хронічного гепатиту різної етіології, неповноцінна годівля, аліментарна дистрофія, анемія.
НЕЖК	Ін'єкції адреналіну, стрес, цукровий діабет, ожиріння, кетоз. Короткочасне підвищення може бути результатом годівлі кормами збагаченим кормовими жирами.	Введення великих доз глюкози, інсуліну, нікотинової кислоти.
Триацил-гліцерол и	Гіпотриацилгліцеринемія спостерігається при хронічних обструктивних захворюваннях легенів, гіпертирізі, в термінальній стадії поразки паренхіми печінки, при жировій дистрофії печінки, нефрозах, діабеті, згодовуванні кормів, збагачених жирами або багатих на легкоперетравні вуглевод, нестача у раціонах протеїну й ліпотропних речовин.	Низький рівень годівлі тварин, посилена молоковіддача, гіпертиреоз та гіперпаратиреоз.
Вільний та	Гіперхолестеринемія відзначається при діабеті, нефрозах, зниження функції	Гепатит, гепатодистрофія та

естерифікований холестерол	щитовидної залози, на початку голодування. При гострих гепатитах рівень загального холестерину на початку захворювання звичайно підвищується, а потім падає нижче норми.	цироз печінки, за тривалої нестачі в раціонах жирів та вуглеводів, при зменшенні синтезу ліпопротеїнів, при гіпертиреозі.
----------------------------	--	---

1.1. Лабораторна робота №1

Визначення глюкози за кольоровою реакцією з орто-толуїдином

Принцип методу. Визначення рівня глюкози — це базовий аналіз, який у ветеринарії допомагає діагностувати цукровий діабет, кетоз (у великої рогатої худоби) та оцінювати загальний стан обміну речовин у тварини.

Метод з **орто-толуїдином** вважається класичним «кольоровим» методом. Він досить точний, хоча зараз у клініках частіше використовують ферментативні методи (глюкозооксидазний) через меншу токсичність реактивів. При нагріванні глюкози з розчином орто-толуїдину в крижаній оцтовій кислоті утворюється сполука синьо-зеленого кольору (глікозиламін). Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози в пробі.

Обладнання і реактиви: Орто-толуїдиновий реактив: (суміш орто-толуїдину, крижаної оцтової кислоти та тіосечовини як стабілізатора). Стандартний розчин глюкози: (зазвичай 5,55 ммоль/л). Трихлороцтова кислота (ТХО): для осадження білків (якщо методика передбачає роботу з безбілковим фільтратом). Обладнання: Фотоелектроколориметр (ФЕК) або спектрофотометр, водяна баня, штатив із пробірками, дозатори.

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

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

Розрахунок проводять за формулою:

$$C_{\partial} = (C_{cm} \times E_{\partial}) / E_{cm}$$

де: C_{∂} – концентрація глюкози у пробі, мг/100 мл крові;

C_{cm} – концентрація глюкози у стандарті;

E_{∂} – оптична щільність дослідної проби;

E_{cm} – оптична щільність стандарту.

Здобувачі мають порівняти отримані результати з нормою для конкретного виду тварин:

- **ВРХ:** 2,2 — 3,3 ммоль/л
- **Коні:** 3,3 — 5,8 ммоль/л
- **Собаки:** 3,3 — 6,0 ммоль/л
- **Коти:** 3,5 — 7,5 ммоль/л

Важливо: Гіперглікемія у тварин може вказувати на цукровий діабет, стрес (особливо у котів) або передозування глюкокортикоїдів. Гіпоглікемія — на голодування, інсуліному або важкі ураження печінки.

1.2. Лабораторна робота №2

Визначення глюкози у плазмі крові глюкозо-оксидазним методом

Принцип методу. Глюкозооксидазний метод на сьогодні є «золотим стандартом» у ветеринарній лабораторній діагностиці. На відміну від кольорових реакцій (як з орто-толуїдином), цей метод є **ферментативним**, що забезпечує його високу специфічність: реактив реагує виключно на глюкозу, не взаємодіючи з іншими цукрами. Метод базується на серії послідовних ферментативних реакцій:

1. Фермент **глюкозооксидаза** окиснює глюкозу до глюконової кислоти з утворенням перекису водню (H_2O_2).
2. Фермент **пероксидаза** розщеплює перекис водню.
3. Вивільнений при цьому кисень окиснює хромоген (зазвичай 4-аміноантипін у суміші з фенолом), що призводить до появи рожево-малинового забарвлення.

Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози в пробі.

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

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

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

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

Визначення глюкози проводять на фотоелектроколориметрі (довжина хвилі 500–546 нм) або на спектрофотометрі (500 нм) у кюветі з товщиною оптичного шару 10 або 5 мм згідно схеми, поданої у таблиці 4. Якщо вміст глюкози у плазмі крові більше 27,7 ммоль/л, її потрібно розвести ізотонічним розчином у 5 разів і повторити визначення.

Схема визначення глюкози у плазмі крові

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

Розрахунок вмісту глюкози у плазмі крові проводять за формулою:

$$C \text{ глюкози (ммоль/л)} = 10 \times A/B \times K$$

де: C – концентрація глюкози, ммоль/л;

10 – стабільна величина;

A – поглинання дослідної проби;

B – поглинання калібрувального розчину;

K – коефіцієнт розведення плазми крові.

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

Вміст глюкози у крові тварин

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

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

Переваги методу для ветеринарії

- 1. Висока точність:** Відсутність впливу інших компонентів крові (білків, креатиніну, сечової кислоти) на результат.
- 2. Мікрометод:** Потребує дуже малої кількості крові (всього 10 мкл), що важливо при роботі з дрібними тваринами (кошенята, цуценята, гризуни, птиця).
- 3. Безпека:** Реактиви не містять агресивних кислот або токсичних сполук, на відміну від орто-толуїдину.

1.3. Лабораторна робота №3

Експрес-метод виявлення ацетонових тіл у сироватці (плазмі) крові. При вмісті в сироватці крові ацетону, ацетооцтової кислоти в концентрації вище 10 мг/100 мл, що буває при кетозі, їх можна виявити з використанням спеціальних тест-пластин або реактиву Лестраде, Ланге й ін.

Реактив Лестраде: натрій нітропрусидний 1 частина, амонію сульфату 20 частин, натрію карбонату безводного 20 частин. Компоненти

дрібно подрібнюють у порцеляновій ступці в однорідний порошок, та поміщають у склянку з темного скла із пробкою. Зберігають 1-2 міс.

Хід визначення. На фільтрувальний папір на кінчику скальпеля наносять близько 50 мг реактиву Лестраде й змочують його 2-3 краплями сироватки (плазми) крові. Через 40-60 секунд зчитують реакцію. Поява бузкового кольору свідчить про наявність у сироватці крові більше 10 мг/100 мл ацетону й ацетооцтової кислоти (така ступінь чутливості реактиву). Чим інтенсивніше колір, тим більше ацетонових тіл у досліджуваній рідині. Висока концентрація ацетонових тіл у крові, молоці й сечі властива кетозу.

Клінічне значення. Характерна ознака кетозу корів і вівцематок - гіперкетонемія, гіперкетонурія, гіперкетонолактія.

При кетозі, особливо в початковій гострій стадії захворювання, вміст кетонових тіл у крові, молоці й сечі різко підвищується, головним чином за рахунок ацетооцтової кислоти й ацетону. При затяжному перебігу хвороби, втраті апетиту й схудненні рівень кетонових тіл у крові падає й нерідко не виходить за верхні межі норми, у той час як у початковий період хвороби перевищував її в кілька разів.

Помірна вторинна кетонемія може бути при затримці посліду, ендометриті, травматичному ретикулоперитоніті, хірургічних інфекціях й інших септичних процесах. Вторинна кетонемія (кетонурія) носить нестійкий характер і зникає з усуненням основного первинного захворювання.

1.4. Лабораторна робота №4

Визначення рівня загальних ліпідів в сироватці крові по кольоровій реакції з сульфованіліновим реактивом (по Целнеру—Киршу).

Принцип. Метод **Целнера—Кирша** є одним із найбільш вживаних у ветеринарній біохімії для швидкого скринінгу стану ліпідного обміну. Хоча зараз існують складніші методи (ГХ, ТШХ), цей метод цінується за простоту та можливість оцінити сумарний вміст усіх фракцій ліпідів в одній пробі. При взаємодії продуктів розпаду ліпідів із **сульфovanіліновим реактивом** (суміш ваніліну та концентрованої фосфорної кислоти) утворюється стійка сполука рожево-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна загальній концентрації ліпідів у досліджуваному зразку.

Реактиви: концентрована сірчана кислота;

концентрована ортофосфорна кислота;

ванілін, 0,6%-ний розчин. 0,6 мл ваніліну розчиняють у невеликій кількості дистильованої води з нагріванням на водяній бані, після охолодження доводять об'єм до 100 мл;

фосфор-ваніліновий реактив: 4 частини ортофосфорної кислоти змішують із 1 частиною 0,6%-ного розчину ваніліну;

хлороформ;

стандартний розчин у хлороформі триолеїну або холестерину зі свіжим топленням і профільтованим вершковим маслом у співвідношенні 1:3 або загальні ліпіди, виділені із сироватки крові або печінки. Зважують на аналітичних вагах 1200 мг триолеїна або інших зазначених ліпідів і розчиняють у мірній колбі на 100 мл.

Обладнання та реактиви: спектрофотометр; водяна баня; термостат; колби мірні; піпетки; пробірки.

Хід визначення. Процес проходить у два основних етапи: гідроліз ліпідів та кольорова реакція. **Етап А: Підготовка (Гідроліз)**

1. У суху пробірку вносять **0,05** мл сироватки крові.
2. Обережно додають **2,0** мл концентрованої сірчаної кислоти.
3. Пробірку ретельно струшують і ставлять у киплячу водяну баню рівно на **10 хвилин**.

4. Після нагрівання пробу швидко охолоджують під струменем води.

Етап Б: Кольорова реакція

1. У чисту пробірку відбирають **0,1** мл отриманого після гідролізу розчину (гідролізату).
2. Додають **3,0** мл сульфованілінового реактиву.
3. Суміш перемішують і витримують у темному місці при кімнатній температурі протягом **30–45 хвилин** для стабілізації забарвлення.
4. Вимірюють оптичну щільність проти холостої проби (де замість сироватки використовують дистильовану воду).

Розрахунок ведуть за графіком. Для його побудови зі стандартного розчину триолеїну готують робочі калібрувальні розчини (табл.6).

Таблиця 6.

Готування робочих розчинів для побудови каліброваного графіка

№ пробірки	Стандартний розчин триолеїну, мл	Хлороформ, мл	Концентрація загальних ліпідів, мг%
1.	0,17	0,83	200
2.	0,33	0,67	400
3.	0,50	0,50	600
4.	0,67	0,33	800
5.	0,83	0,17	1000
6.	1,00	-	1200

Беруть по 0,01 мл кожного розведення каліброваного розчину та виконують всі операції, як з дослідною пробєю. Холосту пробу з дистильованою водою можна не витримувати у водяній бані. На підставі

отриманих даних будують калібрувальний графік. Прямолінійна залежність між концентрацією загальних ліпідів і оптичною щільністю зберігається до 1200 мг%.

Клінічне значення. Фізіологічна гіперліпідемія відзначається через 1—3 г. після згодовування твариною кормів, збагачених ліпідами, а також у курей, індичок, утік, гусаків і інших птахів (самок) у період їхнього статевого дозрівання, підготовки до яйцекладки й у період інтенсивної продуктивності. Патологічна спостерігається в корів з порушенням обміну речовин і аліментарною безплідністю, при концентрованому типі годівлі, ожирінні, гострому й хронічному гепатиті, хронічному нефриті, гіпофункції щитовидної залози, передньої частки гіпофіза, недостатньої активності сироваткової ліпопротеїнової ліпази (ЛПЛ). У хворих цукровим діабетом разом з гіперглікемією наголошується різко виражена гіперліпемія (до 10-20 г/л).

Зменшення вмісту ліпідів у крові (*гіполіпемія*) спостерігається при аліментарній дистрофії (в результаті виснаження жирових депо), гіпертиреозі внаслідок посиленого окиснення жирів. Проте значно більший клінічний інформативний інтерес мають не самі по собі загальні ліпіди, а їх складові.

Здобувачі мають порівняти результат із фізіологічними нормами (середні показники):

- **ВРХ:** 2,5 – 5,0 г/л
- **Коні:** 2,0 – 5,0 г/л
- **Свині:** 2,0 – 4,0 г/л
- **Собаки:** 4,0 – 8,0 г/л

Діагностичні орієнтири:

- **Гіперліпідемія (підвищення):** спостерігається при цукровому діабеті, ожирінні, гіпотиреозі, а також у корів при кетозі (внаслідок мобілізації жиру з депо).
- **Гіполіпідемія (зниження):** може вказувати на виснаження організму, важкі ураження паренхіми печінки (де ліпіди не встигають синтезуватися) або порушення всмоктування в кишечнику (мальабсорбція).

Питання для самоконтролю:

1. Порушення катаболізму вуглеводів.
2. Якісні та кількісні визначення вуглеводів.
3. Кетонові тіла.
4. Гіпо та гіперглікемія.
5. Цукровий діабет.
6. Порушення жирового обміну.
7. Ліпомобілізаційний синдром.
8. Кетоз.

Тема 2. ПОРУШЕННЯ ВОДНО-ІОНОГО ОБМІНУ ТА КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО БАЛАНСУ

2.1. Алгоритм розрахунку дефіциту рідини

Для розрахунку об'єму інфузійної терапії використовуйте формулу:

$$\underline{\text{Дефіцит рідини (мл) = Маса тіла (кг) * \% дегідратації * 10}}$$

Важливо: При крововтраті або сильному проносі насамперед необхідно відновити об'єм циркулюючої крові (ОЦК), щоб уникнути гіповолемічного шоку.

Приклад розрахунку: Пацієнт: Золотистий ретривер, маса 30 кг. Симптоми: Сухі слизові оболонки, еластичність шкіри знижена (шкірна складка

розправляється 3-4 секунди), очні яблука злегка запалі. Оцінка дегідратації: За клінічними ознаками це приблизно 8%.

Розрахунок дефіциту рідини (Deficit). Це та кількість рідини, яку тварина вже втратила до моменту огляду.

$$\underline{30 \text{ кг} * 8 * 10 = 2400 \text{ мл}}$$

Якщо у тварини продовжується діарея або блювання, ми додаємо приблизний об'єм цих втрат. Припустимо, це ще **400 мл** на добу. Загальний підсумок (24 години) Тепер додаємо всі показники, щоб отримати загальний об'єм інфузії на першу добу:

$$2400 \text{ (дефіцит)} + 1500 \text{ (підтримка)} + 400 \text{ (втрати)} = 4300 \text{ мл}$$

Швидкість введення (Крапельниця). Якщо ми плануємо вводити цей об'єм рівномірно протягом 24 годин:

$$\underline{4300 \text{ мл} : 24 \text{ год} \text{ приблизно } 179 \text{ мл/год}}$$

Завдання. Згенерувати та зробити розрахунок за наведеним прикладом самостійно.

Тема 3. ВИЗНАЧЕННЯ КАРОТИНУ І ВІТАМІНУ А В СИРОВАТЦІ КРОВІ.

ПОРУШЕННЯ КИСЛОТНО-ОСНОВНОГО БАЛАНСУ.

3.1. Визначення каротину і вітаміну А в сироватці крові.

У пробірку беруть 1 мл сироватки крові, 3 мл 96% етилового спирту і добре змішують скляною паличкою. Додають 6 мл петролейного ефіру (або бензину), енергійно струшують протягом 2 хв., обережно доливають по стінці пробірки 0,5 мл дистильованої води і залишають стояти до чіткого розмежування органічної та водної фаз. Після цього обережно вливають 4,5 – 5 мл екстракту каротину і переносять у кювет.

Колориметрують на ФЕК в кюветі 1см при синьому світлофільтрі проти петролейного ефіру (бензину). Одночасно колориметрують робочий стандартний розчин калію біхромату (5 мл дистильованої води змішують з 5 мл основного розчину калію біхромату).

Розраховують за формулою:

$$X = A/B \times 1,248$$

де

X – кількість каротину в сироватці крові, мг/100 мл;

A – оптична щільність досліджуваної проби;

B – оптична щільність робочого стандартного розчину;

1,248 – коефіцієнт для перерахунку каротину в мг на 100 мл сироватки.

Клінічне значення. Рівень каротину в сироватці крові залежить від виду, віку тварин. У свиней, дрібної рогатої худоби, кролів і собак є лише залишки каротину, тому їх кількість за цим методом виявити неможливо. В цих тварин визначення вмісту каротину діагностичного значення не має. Це характерно також для новонароджених телят і телят до 6-міс. віку.

Рівень каротину у телят старших 6-місячного віку і у корів 450 – 2000 мкг/100 мл. В пасовищний період вміст каротину в сироватці крові корів повинен бути не меншим 900 мкг/100мл .

Гіпокаротинемія(зменшення вмісту каротину до 450 мкг/100мл і менше).

Це є показником недостатнього надходження провітаміну у складі кормів раціону, або руйнування його антивітамінами у шлунково-кишковому тракті тварин.

3.2. Біохімічні методи діагностики порушення обміну мінеральних речовин

1. ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО КАЛЬЦІЮ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ТРИЛОНОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ З МУРЕКСИДОМ.

Кальцій (Ca^{2+}) відіграє критичну роль у життєдіяльності тварин: бере участь у зсіданні крові, передачі нервових імпульсів, м'язовому скороченні та формуванні скелета. У ветеринарії визначення Кальцію є вирішальним для діагностики **післяпологового парезу** у корів, рахіту, остеодистрофії та еклампсії у сук.

ПРИНЦИП МЕТОДУ. Метод базується на титруванні іонів Кальцію розчином **Трилону Б** (динатрієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти — ЕДТА) у сильнолужному середовищі.

1. До сироватки додають індикатор **мурексид**, який утворює з іонами Кальцію нестійку сполуку **рожево-червоного** кольору.
2. При титруванні Трилон Б зв'язує іони Кальцію міцніше, ніж індикатор.
3. Коли весь Кальцій переходить у комплекс із Трилоном Б, індикатор звільняється і змінює колір розчину на **фіолетовий** (власний колір мурексиду в лужному середовищі).

РЕАКТИВИ : 0,005н розчин трилону Б, індикатор мурексид, 1,8н розчин гідроксиду натрію, стандартний розчин кальцію (2,495 г висушеного карбонату кальцію розчиняють в 30 мл концентрованої хлороводневої кислоти і доливають до 1 л дистильованою водою).

В 1 мл стандартного розчину міститься 1 мг кальцію. Робочий розчин кальцію, в 1 мл якого міститься 0,1 мг кальцію, готують з основного розчину, розвівши його в 10 разів.

Робочий розчин кальцію повинен бути вититруваний 0,005 розчином трилону Б 1: 1.

ХІД РОБОТИ

У склянку об'ємом 50 – 100 мл наливають 9.4 мл дистильованої води, 0,4 мл 1,8н р-ну гідроксиду натрію і 2 краплі індикатора мурексиду, розчин забарвлюється у фіолетовий колір (контроль).

В іншу склянку (дослід) наливають 9 мл води, 0,4 мл 1,8н р-ну гідроксиду натрію, 0,4 мл сироватки крові, 2 краплі індикатора, розчин набуває блідо-рожевого кольору. Дослідну пробу титрують 0,005н розчину трилону Б до фіолетового кольору (колір контролю). Вміст кальцію визначають за формулою:

$$Ca = 0,1 \times П \times 250 = П \times 25$$

де

П – кількість р-ну трилону Б, який пішов на титрування проби, мл ;

0,1 – кількість кальцію, що відповідає 1 мл р-ну трилону Б, мг ;

250 – коефіцієнт перерахунку.

Щоб перевести мг/100 мл коефіцієнт в м/моль/л множать на коефіцієнт 0,2495.

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ. Зменшення кількості загального кальцію в сироватці крові (гіпокальціємія) зустрічається при недостатньому надходженні його з кормом, поганому засвоєнні в організмі в результаті дефіциту вітаміну Д і паратгормону, зустрічається також при остеомалачії, після пологовому парезі, рахіті.

Збільшення кількості кальцію в крові (гіперкальціємія) може бути аліментарного походження і при хворобах (деформуючий артрит, гангрена легень та інші).

2. ВИЗНАЧЕННЯ НЕОРГАНІЧНОГО ФОСФОРУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗА МЕТОДОМ БРІГГСА В МОДИФІКАЦІЇ С.А.ІВАНОВСКОГО.

Фосфор (Р) входить до складу нуклеїнових кислот, фосфоліпідів мембран, АТФ (головного носія енергії) та є основним компонентом кісткової тканини. Для ветеринара критично важливим є **співвідношення**

Са:Р (у нормі воно становить близько 1,5:1 – 2:1). Порухення цього балансу призводить до остеодистрофії, «лизухи» у корів та порушення статевої функції. **Метод базується** на здатності неорганічного фосфору (фосфатів) взаємодіяти з молібдатом амонію з утворенням фосфорно-молібденової кислоти. Останню відновлюють за допомогою спеціальних відновників (у даному методі — гідрохінону або аскорбінової кислоти) до сполук молібдену нижчого ступеня окиснення, які мають інтенсивне синє забарвлення («молібденова синь»).

РЕАКТИВИ: 20% розчин трихлороцтової кислоти, 5% розчин молібдату амонію на 15% розчині сірчаної кислоти, 1% р-н аскорбінової кислоти на децинормальному розчині хлороводневої кислоти, стандартний розчин фосфору (містить в 1 мл 0,02 мг фосфору). Готують його з основного розчину, в якому 4,39369 г дигідрофосфату калію розчинено в 1 л дистильованої води. Для отримання стандартного розчину беруть 2 мл основного розчину і додають до 100 мл дистильованої води, потім додають 20 мл 20% розчину трихлороцтової кислоти.

ХІД РОБОТИ:

Для осадження білків сироватки крові у центрифужну пробірку наливають 3 мл дистильованої води, 1 мл сироватки крові та 1 мл р-ну трихлороцтової кислоти, після цього вміст пробірки перемішують і через 5 хвили центрифугують (15 –20 хвилин при 1500об/хв.). Потім беруть дві пробірки для контрольної і дослідної проби.

В одну пробірку (дослід) наливають 2,5 мл центрифугату сироватки крові, 0,5 мл розчину молібдату амонію, 1 мл р-ну аскорбінової кислоти. В другу пробірку (контроль) беруть 2,5 мл стандартного р-ну фосфору, 0,5 мл р-ну молібдату амонію. Вміст обох пробірок розводять до 10 мл дистильованої води. Через 10 хвилин після постановки кольорової реакції розчин колориметрують на електрофотоколориметрі ФЕК при зеленому світлофільтрі, використовуючи при цьому кювети на 10 мм. У ліве гніздо

приладу вміщують кювету з дистильованою водою. Показники оптичної густини розчинів проб відраховують на правому барабані.

Вміст неорганічного фосфору сироватки крові визначають за формулою:

$$P = 10 \times A/B$$

де

A – показник оптичної густини (дослід);

B – показник оптичної густини (контроль);

10 – коефіцієнт перерахунку вмісту фосфору в мг/100 мл.

Для перерахунку вмісту фосфору в ммоль/л його кількість мг/100 мл множать на коефіцієнт 0,3230.

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ. Зменшення вмісту неорганічного фосфору в сироватці (гіпофосфатемія) зустрічається при рахіті, остеодистрофії, неповноцінній годівлі. Збільшення вмісту неорганічного фосфору (гіперфосфатемія) спостерігається при заживанні переломів, хворобах нирок та інші.

3.ВИЗНАЧЕННЯ ЛУЖНОЇ ФОСФАТАЗИ В СИРОВАТЦІ КРОВІ.

Визначення активності **лужної фосфатази (ЛФ)** є одним із найважливіших тестів у ветеринарній біохімії, оскільки цей фермент є прямим індикатором стану кісткової тканини та гепатобіліарної системи (печінки та жовчних шляхів).

ПРИНЦИП МЕТОДУ. Метод оснований на здатності лужної фосфатази при певних умовах гідролізувати ефірний зв'язок паранітрофенілфосфату. В результаті звільняється паранітрофенол, який в лужному середовищі має жовтий колір. По інтенсивності кольору визначають активність ферменту.

РЕАКТИВИ:

- 1) 7,5 x 10М розчин р-нітрофенілфосфату натрію в 0,001н розчині соляної кислоти (HCl);
- 2) 0,05М розчин вероналового буферу (рН – 10,5).

3) Буферний розчин субстрату. Готують змішуванням рівних об'ємів розчинів 1 і 2. Зберігається в холодильнику до 5-ти тижнів (розчин А).

4) 0,02н розчин NaOH. Готують на дистильованій воді (розчин Б).

5) Стандартний розчин р-нітрофенолу для побудови калібровочної кривої.

ХІД РОБОТИ:

В пробірку беруть 1 мл розчину А і 0,1 мл свіжої сироватки крові, перемішують. В другу пробірку (контроль) наливають 1 мл розчину А. Обі пробірки поміщають в водяну баню при температурі 37С на 30 хвилин. Після інкубації обі пробірки переносять в льодяну баню і додають до них по 10 мл 0,02н розчину NaOH, а в контрольну пробірку ще 0,1 мл сироватки. Вмістиме пробірок перемішують і через 3 – 5 хвилин фотометрують в кюветі на 10 мм при 405 мкм. Різницю показів дослідної і контрольної проби порівнюють з калібровочною кривою і знаходять кількість р-нітрофенолу. За одиницю активності лужної фосфатази приймають кількість ферменту, яка міститься в 1 л сироватки і звільняється при температурі 37С протягом години 1 мкмоль р-нітрофенолу із складного ефіру.

Орієнтовні норми активності ЛФ (МО/л)

Важливо: У молодих тварин (цуценят, телят) рівень ЛФ може бути у 2–3 рази вищим за норму дорослих через інтенсивний ріст кісток, і це не вважається патологією.

Діагностична інтерпретація.

Підвищення активності:

- **Холестаза:** застій жовчі, камені у жовчних протоках.
- **Хвороби кісток:** рахіт, остеомалія, загоєння переломів, остеосаркома.
- **Синдром Кушинга:** у собак при надлишку глюкокортикоїдів.

Зниження активності: зустрічається рідко (гіпотиреоз, глибока анемія, дефіцит цинку або магнію).

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ.

1. Біологічна функція кальцію в організмі.
2. Як поділяються мінеральні елементи в організмі?
3. Що таке гіпо- і гіперкальцемія, причини її розвитку?
4. Біологічна роль фосфору в організмі.
5. обмін магнію в нормі і при патології.
6. Біохімічні методи діагностики порушень обміну кальцію фосфору і магнію.
7. Обмін мікроелементів та клінічна біохімія мікроелементозів.

Рекомендована література

1. Левченко В. І., Влізло В. В., Кондрахін І. П. та ін. Клінічна діагностика хвороб тварин. К.: Аграрна освіта, 2022. 544 с.
2. Губський Ю. І. Біологічна хімія: Підручник. Київ-Вінниця: Нова книга, 2019. 664 с.
3. Влізло В. В., Федорук Р. С., Ратич І. Б. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
4. Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2022). *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology*. 3rd Edition. Wiley-Blackwell.
5. Kaneko, J. J., Harvey, J. W., & Bruss, M. L. (2024). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 7th Edition. Academic Press.

Методичні рекомендації до лабораторних занять з дисципліни «Ветеринарна клінічна біохімія» для здобувачів вищої освіти другого (магістерського) рівня вищої освіти за спеціальністю Н 6 (211) «Ветеринарна медицина», галузі знань Н «Сільське, лісове, рибне господарство та ветеринарна медицина» / Тетяна ТОКАРЧУК, Кам'янець-Подільський: ЗВО «ПДУ», 2026. 32 с. 1,45 ум.др.ар