

УДК 619:616 – 074:612.015.123/.32:636.3

ВОВКОТРУБ Н.В., канд. вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

ПОРІВНЯЛЬНА ІНФОРМАТИВНІСТЬ СУЧАСНИХ МЕТОДОЛОГІЧНИХ ПІДХОДІВ ДО ВИЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНО-ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ВІВЦЕМАТОК

У статті проаналізовано інформативність та доцільність визначення вмісту β -оксималяної кислоти та глюкози в крові лактуючих вівцематок за допомогою глюкометра *Optium Xceed* з використанням специфічних тест-стрічок. Встановлено, що під час визначення рівня глікемії в овець з використанням глюкозо-оксидазного методу та експрес-діагностики є вірогідні відхилення. Вміст глюкози в крові лактуючих вівцематок через 1–2 міс. після окоту, визначений за допомогою глюкометра, на 13,2 % перевищував аналогічний показник за глюкозо-оксидазного методу дослідження. Вміст β -оксималяної кислоти в крові вівцематок знаходився в межах 0,1–0,2 ммоль/л. Недоліком застосування приладу *Optium Xceed* для оцінки рівня кетонемії та глікемії у тварин є висока вартість тест-стрічок.

Ключові слова: вівцематки, кетоз, глюкоза, кетоніві тіла, діагностика, глюкометр.

Постановка проблеми. Одними зі складових успішного ведення вівчарства є рання діагностика, спрямована профілактика, а за необхідності – ефективне лікування метаболічних і внутрішніх хвороб овець. Хвороби, спричинені порушенням обміну речовин, на сучасному етапі розвитку тваринництва і, зокрема, вівчарства, є досить поширеними. Основними етіологічними чинниками, в більшості випадків, є серйозні порушення в системі годівлі тварин. Часто овець утримують на раціонах з дефіцитом енергії, протеїну, макро- і мікроелементів, вітамінів. Нерідко кітним вівцям згодують силос і сінаж, які містять масляну кислоту та інші продукти гниття, що спричиняє порушення вуглеводно-ліпідного обміну і, як наслідок, розвиток кетозу. За своєю патогенетичною суттю кетоз вівцематок має багато спільного з кетозом високопродуктивних корів, який досить добре вивчений [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відомостей щодо кетозу вівцематок у наукових публікаціях небагато, в основному, вони зосереджені на захворюванні кітних вівцематок (токсемія кітних овець). І.В. Сенчук [2] вперше в Україні вивчив питання, що стосуються розвитку поєднаної патології – кетозу і гепатодистрофії, зокрема в лактуючих вівцематок. Він довів, що лактуючі вівцематки, так само як і кітні, хворіють на кетоз з характерними симптомами, змінами крові та сечі: пригнічення, зниження апетиту і вгодованості, гіпотонія рубця, кетонемія, кетонурія, гіпоглікемія, білірубінемія, підвищення активності АсАТ, АлАТ, ГГТП.

Захворювання часто має субклінічний, підгострий та хронічний перебіг, тому клінічна діагностика має певні труднощі, оскільки специфічні симптоми хвороби часто відсутні. Постановка діагнозу в цьому випадку базується на виявленні кетонемії, кетонурії і гіпоглікемії, для встановлення яких необхідно проведення лабораторних досліджень, що для практичних лікарів господарств є проблематичним.

За даними літератури [1, 3, 4], клінічні симптоми кетозу проявляються, коли рівень кетонових тіл у крові перевищує 10 мг/100 мл (1,7 ммоль/л). На початку хвороби ці симптоми є нетиповими (тахікардія, тахіпноє, гіпотонія передшлунків, зниження продуктивності).

Кетоніві тіла в жуйних утворюються, головним чином, у печінці і слизовій передшлунків, а їх рівень у крові значно вищий, ніж у тварин інших видів [5]. Вони є звичайними метаболітами обміну вуглеводів, жирів і деяких амінокислот, під час розпаду яких утворюється оцтова кислота у вигляді сполуки з коферментом ацетилювання – ацетил-КоА. Активована оцтова кислота надалі окиснюється у циклі трикарбонових кислот, початковим етапом якого є реакція конденсації із щавлевооцтовою кислотою (ЩОК). Окиснення її блокується нестачею ЩОК, основним джерелом якої є глюкоза. У такому разі дві молекули ацетил-КоА конденсуються з утворенням ацетоацетил-КоА, який через кілька стадій перетворюється на ацетоацетат, з котрого потім у процесі декарбоксілювання утворюється ацетон, а за окиснення (приєднується 2H^+) – бета-оксималяна кислота.

У жуйних кетоніві тіла утворюються також у стінках передшлунків. З масляної кислоти, що синтезована мікроорганізмами, у стінках передшлунків утворюється бета-оксималяна, з неї внаслідок відновлення (-2H^+) – ацетооцтова, а з останньої за декарбоксілювання – ацетон. Основна кількість кетонових тіл у крові (82–87 %) припадає на бета-оксималяну кислоту.

У крові, сечі та молоці завжди є незначна кількість кетонових тіл, проте вони не визначаються якісними реакціями. Підвищення їх рівня у крові (кетонемія) супроводжується посиленням виділенням через нирки (кетонурія), молочну (кетонolakтія) і потові залози та легені.

За даними В.І. Левченка зі співавт. (2002), загальна кількість кетонівих тіл у сироватці крові овець становить 0,51–1,2 ммоль/л, глюкози – 2,5–3,3 ммоль/л [6]. І.В. Сенчук встановив, що діагностичними лабораторними тестами кетозу і гепатодистрофії вівцематок є: вміст у крові кетонівих тіл вище 0,77 ммоль/л, зокрема ацетону і ацетооцтової кислоти – більше 0,26 ммоль/л; глюкози – менше 2,5 ммоль/л [2]. Між умістом глюкози і кетонівих тіл у крові відмічається зворотна корелятивна залежність.

Для визначення вмісту кетонівих тіл у крові застосовують різні методи – йодометричний, дифузійний з використанням здвоєних колб. Проте ці методики достатньо складні у виконанні й тривалі за часом, тому не в кожній лабораторії їх виконують.

Багато вчених [7–13] вказують на важливість дослідження сечі для діагностики кетозу, оскільки кетоніві тіла не мають ниркового порогу, а їх виділення через нирки значно інтенсивніше, ніж через молочну залозу [14]. У ветеринарній практиці для визначення кетонівих тіл у сечі широко застосовуються якісні проби, зокрема нітропрусидні (Розера, Легалья, Лестраде, Ланге, Росса, Ібришимова та ін.) [15, 16], які вперше були запропоновані Розером у 1908 році. Проте вони дають лише відносне уявлення про ступінь кетонурії [17], оскільки натрію нітропрусид з β-оксимасляною кислотою зовсім не реагує, з ацетоном утворює кольорову реакцію у 30 разів слабкішу, ніж з ацетооцтовою кислотою [17]. У зв'язку з зазначеним вище, є необхідність визначення кількісного ступеня кетонурії. Запропонована модифікація методу визначення кетонівих тіл [17] полягає у збільшенні кількості осаджувача та застосуванні апарату Лейтеса і Одинцова, що робить його придатним для дослідження сечі великої рогатої худоби.

Останнім часом для діагностики кетозу рекомендують використовувати індикаторні смужки KetoPhan, універсальні індикаторні смужки Hepta- або Penta-Phan (La-Chema, Чехія), Ketur-Test, Combur-Test (Німеччина) [13, 18]. Індикаторну смужку змочують сечею і порівнюють колір зі стандартом. Метод достатньо простий і зручний у виконанні, його можна використовувати безпосередньо в господарстві. Недоліком є те, що на стандарті вказане фіксоване значення кількості кетонівих тіл у сечі, тому не завжди вдається визначити точний ступінь кетонурії в окремо взятій пробі. Крім того, визначення кетонівих тіл у сечі, особливо овець, є проблематичним, оскільки процедура відбору сечі в цих тварин часто є утрудненою.

З метою діагностики кетозу прийнято визначати вміст глюкози в крові. Для цього розроблені різні хімічні методи, зокрема, ортотолуїдиновий, глюкозо-оксидазний тощо. Глюкозу визначають у крові, сироватці та плазмі. Проте, слід враховувати, що вміст її у цих субстратах швидко знижується внаслідок гліколізу, тому визначати цей показник необхідно не пізніше 2 год після взяття крові, або швидко отримувати безбілковий фільтрат, що також є проблематичним в умовах господарства. Окрім того, не завжди вдається транспортувати зразки крові протягом 2 год до лабораторії, тому визначення вмісту глюкози в крові не завжди дає об'єктивні результати.

Останнім часом для кількісного визначення кетонівих тіл (β-оксимасляної кислоти) та глюкози у крові корів в умовах ферми з успіхом використовують прилад *Optium Xceed* (виробник *Abbot Diabetes Care*, Німеччина), головними перевагами якого є: портативність, можливість використання безпосередньо поряд з твариною без необхідності відправляти зразки крові до лабораторії, наявність різних (глюкоза, кетоніві тіла) діагностичних тест-стрічок, незалежність від центрального енергозабезпечення, висока точність й порівняність з «класичними методиками», швидкість й простота проведення аналізу [19–21].

Визначення вмісту β-гідроксибутирату та глюкози в крові за допомогою цього приладу дає можливість лікарям контролювати стан енергетичного обміну в тварин безпосередньо на виробництві, що сприяє виявленню на ранніх стадіях приховано перебігаючих патологій, зокрема, кетозу, а відповідно й можливості вчасного надання лікувальної допомоги та проведення профілактичних заходів.

Ще однією перевагою використання приладу *Optium Xceed* є незначна кількість крові (лише крапля) для проведення дослідження, яку можна отримати проколом голкою чи скарифікатором вушної або середньої хвостової вени. Краплю крові наносять безпосередньо на вставлену в прилад тестову стрічку після появи відповідного сигналу на дисплеї. Залежно від того, яку стрічку використовують на момент дослідження (на кетоніві тіла чи глюкозу), прилад самостійно ідентифікує серію тест-стрічки і напрям діагностики. Через декілька секунд після нанесення крові на дисплеї висвічується результат (рис. 1), який автоматично залишається в пам'яті приладу.

За результатами проведених досліджень з використанням зазначеного приладу встановили, що рівень β-гідроксимасляної кислоти в крові клінічно здорових високопродуктивних корів не повинен перевищувати 0,6 ммоль/л. Вміст її в межах 0,6–1,0 ммоль/л вважають незначно

підвищеним, кількість кетонових тіл – від 1,0 до 1,4 ммоль/л вказує на субклінічний перебіг кетозу, більше 1,5 – тварина потребує негайного лікування [19–21].

Мета дослідження – з'ясувати можливість використання приладу серед вівцематок, оскільки патологія вуглеводно-ліпідного обміну в них є достатньо поширеною та актуальною.

Матеріал і методи досліджень. Робота виконувалась на вівцематках 3–5-річного віку через 1–2 місяці після окоту (n=20). Кров для досліджень відбирали з яремної вени. В крові досліджували рівень глюкози глюкозо-оксидазним методом та за допомогою глюкометра *Optium Xceed* з використанням тест-стрічок на глюкозу, за допомогою цього ж приладу визначали вміст β -оксимасляної кислоти.

Результати досліджень та їх обговорення. В крові вівцематок визначали вміст глюкози двома методами: уніфікованим глюкозо-оксидазним та експрес-методом з використанням глюкометра *Optium Xceed*. Першим методом рівень глюкози визначали в умовах лабораторії не пізніше 2 год після відбору крові. Ці ж проби в умовах господарства досліджували за допомогою глюкометра, використовуючи специфічні для глюкози тест-стрічки (рис. 1).



Рисунок 1 – Глюкометр *Optium Xceed* із тест-стрічками

Як видно з таблиці 1 середній вміст глюкози в крові вівцематок за обох методів дослідження був у межах норми, проте середнє значення його рівня під час визначення за допомогою приладу було вірогідно ($p < 0,05$) більшим (на 13,2 %), порівняно з глюкозо-оксидазним.

Таблиця 1 – Показники вмісту глюкози в крові лактуючих вівцематок, ммоль/л

№ проби	Глюкозо-оксидазний метод	Глюкометр <i>Optium Xceed</i>	Різниця, \pm
1	1,81	2,1	+0,29
2	2,33	3,1	+0,77
3	2,82	3,4	+0,58
4	2,37	2,9	+0,53
5	2,27	2,9	+0,63
6	2,50	3,0	+0,50
7	1,99	2,6	+0,61
8	1,91	2,5	+0,59
9	2,33	3,2	+0,87
10	2,61	3,1	+0,49
11	3,17	3,0	-0,17
12	2,76	2,4	-0,36
13	3,01	3,1	+0,09
14	2,78	2,7	-0,08
15	3,84	4,9	+1,06
16	2,44	2,4	-0,04
17	3,34	4,2	+0,86
18	3,15	3,7	+0,55
19	2,97	3,2	+0,23
20	4,78	5,2	+0,42
Lim	1,71–4,78	2,1–5,2	
M\pmm	2,76\pm0,155	3,18\pm0,178*	

Примітка. * – $p < 0,05$, порівняно з глюкозо-оксидазним методом.

Аналізуючи дані таблиці 1, видно, що лише в 15 % випадків різниця між обома методами була незначною – до 0,1 ммоль/л (0,04–0,09 ммоль/л), решта проб мали відхилення від 0,17 до 1,06 ммоль/л.

Слід відмітити, що в 20 % проб вміст глюкози під час експрес-діагностики був меншим, ніж за іншого методу визначення, показники решта 80 % мали позитивне відхилення. Менші значення рівня глюкози під час визначення глюкозо-оксидазним методом, напевне, можна пояснити, поперше, – впливом фактору часу, по-друге – ймовірною похибкою під час підготовки проб для дослідження (приготування та додавання антикоагулянта, центрифугування) та проведення самого визначення (рознесення реактивів та плазми крові, дотримання температурного режиму під час інкубації у водяній бані, стан приладів та кювет для фотометрування).

Використання глюкометра з тест-стрічками для визначення вмісту глюкози в крові тварин зменшує ризик щодо появи зазначених похибок під час проведення досліджень. Проте, напевне, єдиним недоліком цього методу діагностики є його вартість. Дослідження однієї проби на вміст глюкози в крові глюкозо-оксидазним методом коштує 1,75–2,00 грн, за умови, що вартість набору реактивів становить 70,0–90,0 грн, тоді як собівартість визначення рівня глюкози за допомогою приладу *Optium Xceed* – 4,00 грн, з розрахунку, що упаковка тест-стрічок в кількості 25 шт. коштує 100, 00 грн.

Апробацію глюкометра *Optium Xceed* проводили з метою визначення вмісту кетонів тіл (β -гідроксибутирату) у крові лактуючих вівцематок, оскільки в літературі є дані лише стосовно діагностики рівня кетонемії у високопродуктивних корів. Уміст β -оксимасляної кислоти в крові вівцематок мав невеликі коливання і знаходився в межах 0,1–0,2 ммоль/л (табл. 2), тоді як середнє значення по групі становило 0,14 \pm 0,016 ммоль/л.

Таблиця 2 – Показники вуглеводно-ліпідного обміну у лактуючих вівцематок, визначених за допомогою глюкометра *Optium Xceed*

Показник	Дослідна група	Норма (за Левченком В.І. зі співавт., 2002 р.)
Глюкоза, ммоль/л	2,1–5,2 3,18 \pm 0,178	2,5–3,3
Кетонів тіла, ммоль/л	0,1–0,2 0,14 \pm 0,016	0,5–1,2

Аналізуючи літературні джерела, бачимо, що це достатньо низький показник. Враховуючи, що норма загальної кількості кетонів тіл у крові овець знаходиться в межах 0,5–1,2 ммоль/л [6], то кількість β -оксимасляної кислоти становить 0,42–1,0 ммоль/л (близько 85 %). За даними І.В. Сенчука, рівень загальної кількості кетонів тіл у крові вівцематок 2–10 днів після окоту становив 0,43 \pm 0,022 ммоль/л, тоді як сумарне значення ацетону та ацетоацетату – 0,05 \pm 0,004 ммоль/л, при цьому середнє значення вмісту глюкози в овець складало 2,75 \pm 0,098 ммоль/л.

У нашому досліді рівень β -гідроксибутирату був значно меншим, проте вміст глюкози вищим. Можливо, це пояснюється різним фізіологічним періодом вівцематок, оскільки ми проводили дослідження через 1–2 місяці після окоту, коли енергетична напруженість організму овець дещо знівельована, тоді як І.В. Сенчук досліджував лактуючих вівцематок протягом перших 10 днів після окоту, коли, як правило, гостро відчувається нестача енергії та процеси кетогенезу посилені. Крім того, для визначення рівня кетонемії автор користувався модифікованим дифузійним методом Р.Я. Трубки, тоді як ми отримували результати за допомогою приладу *Optium Xceed*.

Собівартість визначення вмісту β -оксимасляної кислоти в крові тварин достатньо висока – вартість однієї тест-стрічки на кетонів тіла становить близько 10 грн, з розрахунку, що упаковка специфічних стрічок в кількості 10 шт. коштує 105, 00 грн.

Висновки. 1. Використання глюкометра *Optium Xceed* з метою діагностики ступеня кетонемії та глікемії в овець дозволяє швидко та якісно провести кількісне визначення β -оксимасляної кислоти та глюкози крові в умовах господарства, уникаючи багатьох похибок.

2. Вміст глюкози в крові лактуючих вівцематок через 1–2 міс. після окоту, визначений за допомогою глюкометра, становив 3,18 \pm 0,178 ммоль/л (2,1–5,2 ммоль/л), що на 13,2 % перевищувало ($p < 0,05$) аналогічний показник за глюкозо-оксидазного методу дослідження. Вміст β -оксимасляної кислоти в крові вівцематок знаходився в межах 0,1–0,2 ммоль/л, його середнє значення по групі становило 0,14 \pm 0,016 ммоль/л.

3. Недоліком експрес-діагностики з використанням приладу *Optium Xceed*, особливо щодо визначення рівня кетонемії, є її вартість. Собівартість тест-стрічки для визначення вмісту глюкози становить 4,00 грн, для β -оксимасляної кислоти – 10,50 грн.

У перспективі плануємо продовжувати вивчати зміни рівня кетонемії та глікемії у вівцематок залежно від їх фізіологічного стану з використанням глюкометра *Optium Xceed*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Кондрахин И.П. Кетоз, остео дистрофия и ожирение у коров в условиях интенсивного животноводства (этиология, диагностика, профилактика и лечение): автореф. дис. на соискание уч. степени д-ра вет. наук: спец. 16.00.01 “Диагностика и терапия животных” / И.П. Кондрахин. – М., 1980. – 36 с.
2. Сенчук І.В. Поліморбідність: кетоз та гепатодистрофія вівцематок (етіологія, діагностика, профілактична терапія): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.01 “Діагностика і терапія тварин”/І.В. Сенчук – Біла Церква, 2009. – 22 с.
3. Oetzel G.R. Herd-Level Ketosis – Diagnosis and Risk Factors / G.R. Oetzel // Preconference Seminar: Dairy Herd Problem Investigation Strategies: 40th Annual Conference. – Vancouver, 2007. – P. 67–91.
4. [Duffield T.](#) Subclinical ketosis in lactating dairy cattle / T. [Duffield](#) // [Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract.](#) – 2000. – V. 16(2). – P. 53.
5. [Zammit V. A.](#) Ketogenesis in the liver of ruminants – adaptations to a challenge / [V. A. Zammit](#) // [The Journal of Agricultural Science.](#) – 1990. – № 115(02). – P. 155–162.
6. Ветеринарна клінічна біохімія / [Левченко В.І., Влізло В.В., Кондрахин І.П. та ін.]; За ред. В.І. Левченка і В.Л. Галаяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с.
7. Кондрахин І. Етіологічний та патогенетичний зв'язок множинної патології, особливості лікування і профілактики / І. Кондрахин // Вет. медицина України. – 2006. – № 2. – С. 9–10.
8. Oetzel G.R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease / G.R. Oetzel // *Vet. Clin. North Am. (Food Animal)*. – 2004. – V. 20(3). – P. 651–674.
9. Павлов М.Є. Особливості діагностики і профілактики хвороб, спричинених порушенням обміну речовин / М.Є. Павлов, М.Л. Маслій, В.Ф. Писаренко // Вет. медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Вип. 85, т. 2. – Харків, 2005. – С. 885–887.
10. Влізло В.В. Жировий гепатоз у високопродуктивних корів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра вет. наук: спец. 16.00.01 “Діагностика і терапія тварин” / В.В. Влізло – К., 1998. – 34 с.
11. Кондрахин И.П. Диагностика и терапия болезней животных: практикум / И.П. Кондрахин. В.И. Левченко. – М.: Аквариум-Принт, 2005. – 830 с.
12. Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин [текст]: підручник / В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахин та ін.; за ред. В.І. Левченка. – Біла Церква, 2004. – 608 с.
13. Кетоз високопродуктивних корів: етіологія, діагностика і лікування / В.І. Левченко, В.В. Сахнюк, О.В. Чуб та ін. // Здоров'я тварин і ліки. – 2009. – № 2. – С. 14–16.
14. Evaluation of eight cow-side Ketone tests in milk for detection of subclinical Ketosis in dairy cows / [Geishauser T., Leslie K., Tenhag J., Bashiri A.] – *J. Dairy Sci.* – 2000. – № 83. – P. 296–299.
15. Методи ветеринарної клінічної лабораторної діагностики: справочник / [Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.И. и др.]; под ред. проф. И.П. Кондрахина. – М.: КолосС, 2004. – 520 с.
16. Методи лабораторної клінічної діагностики хвороб тварин / [Левченко В.І., Головаха В.І., Кондрахин І.П. та ін.]; за ред. В.І. Левченка. – К.: Урожай, 2010. – 470 с.
17. Чумак М.І. До методики кількісного визначення кетонових тіл у сечі корів / М.І. Чумак // Ветеринарія: Респ. міжвід. темат. наук. зб. – К.: Урожай, 1968. – Вип. 19. – С. 104–107.
18. Дослідження сечі: метод. рекомендації / В.І. Левченко, М.Я. Тишківський, В.В. Сахнюк [та ін.] – Біла Церква, 2005. – 74 с.
19. Малков-Нерде К. Быстрый тест для определения кетоза / К. Малков-Нерде // Интернет-ресурс: <http://soft-agro.com>.
20. Townsend J. Cowside Tests for Monitoring Metabolic Disease / J. Townsend // Tri-State Dairy Nutrition Conference. – 2011. – P. 55–59.
21. Oetzel G.R. Evaluation of a hand-held meter for cowside evaluation of blood beta-hydroxybutyrate and glucose concentrations / G.R. Oetzel, S.M. McGuirk // Proceedings of the 41st Conf. of the Am. Ass. of Bovine Practitioners. – 2008. – P. 234.

Сравнительная информативность современных методологических подходов к определению показателей углеводно-липидного обмена у овцематок

Н.В. Вовкотруб

В статье проанализированы информативность и целесообразность определения содержания β -оксимасляной кислоты и глюкозы в крови лактирующих овцематок с помощью глюкометра *Optium Xceed* и с использованием специфических тест-полосок. Установлено, что во время определения уровня гликемии среди овец с использованием глюкозо-оксидазного метода и экспресс-диагностики есть вероятные отклонения. Содержание глюкозы в крови лактирующих овцематок через 1–2 месяца после окота, определенное с помощью глюкометра, на 13,2 % было выше, чем аналогичный показатель при определении глюкозо-оксидажным методом. Содержание β -оксимасляной кислоты в крови овцематок находилось в пределах 0,1–0,2 ммоль/л. Недостатком использования прибора *Optium Xceed* для оценки уровня кетонемии и гликемии у животных является высокая стоимость тест-полосок.

Ключевые слова: овцематки, кетоз, глюкоза, кетоновые тела, диагностика, глюкометр.