

**НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
БИОЛОГО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**ФИЗИОЛОГИЯ КРОВИ И  
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

**Лабораторный практикум**

**Новосибирск 2022**

**НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
БИОЛОГО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**ФИЗИОЛОГИЯ КРОВИ И  
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

Лабораторный практикум

**Новосибирск 2022**

УДК 619:612. 1/8 (07)

ББК 45.27, Я7

Ф 504

Кафедра физиологии и биохимии человека и животных

Составители: д-р ветер. наук, проф. *П.Н. Смирнов*

канд. биол. наук, доц. *Н.В. Ефанова*

канд. биол. наук, доц. *Л.М. Осина*

канд. биол. наук, доц. *С.В. Баталова*

Рецензент: д-р биол. наук, проф. *И.В. Моружи*

**Физиология крови и сердечно-сосудистой системы:** лабораторный практикум/ Новосиб. гос. аграр. ун-т, Биол.-технол. фак.; сост.: П.Н. Смирнов, Н.В. Ефанова, Л.М. Осина, С.В. Баталова. – Изд. 2-е, испр. – Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2022.– 46 с.

Лабораторный практикум предназначен для студентов всех форм обучения по направлениям подготовки: 06.03.01 – Биология, 36.03.02 – Зоотехния, 35.03.07 – Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции, 36.03.01 – Ветеринарно-санитарная экспертиза, 20.03.01 – Техносферная безопасность и 36.05.01 – Ветеринария.

Утвержден и рекомендован к изданию учебно-методическим советом биолого-технологического факультета (протокол № 8 от 19 сентября 2022 г.).

© Новосибирский ГАУ, 2022

## ВВЕДЕНИЕ

Лабораторный практикум предназначен для изучения физиологии крови и сердечно-сосудистой системы. Он состоит из двух разделов. Каждый раздел соответствует изучаемой теме и представлен комплексом лабораторно-практических работ, позволяющих студентам приобретать навыки в проведении экспериментов, лабораторных работ и развивать аналитические способности при обработке полученных результатов. Каждое задание подкреплено контрольными вопросами, способствующими лучшему усвоению изучаемого материала.

Настоящий практикум составлен в соответствии с новыми учебными требованиями, предъявляемыми к изучению следующих дисциплин: **«Физиология животных»** по направлениям подготовки: 06.03.01 – Биология; 36.03.02 – Зоотехния; 35.03.07 – Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции; по направлению: 36.03.01 – Ветеринарно-санитарная экспертиза – **«Основы физиологии»**; по направлению подготовки 20.03.01 – Техносферная безопасность – **«Физиологии человека»** и по специальности 36.05.01 – Ветеринария – **«Физиология и этология животных»**.

## РАЗДЕЛ I. КРОВЬ

Кровь вместе с лимфой и тканевой жидкостью составляет внутреннюю среду организма, которая отличается динамическим постоянством состава, физико-химическими и биологическими свойствами (гомеостаз).

Она состоит из плазмы и форменных элементов (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов), находящихся во взвешенном состоянии.

Функции крови многообразны, но основные из них следующие:

1. Транспорт кислорода и углекислого газа.
2. Транспорт питательных веществ.
3. Транспорт экскретов – веществ, подлежащих удалению из организма.
4. Борьба с микроорганизмами и обезвреживание образуемых ими вредных веществ.
5. Поддержание постоянства внутренней среды организма: температуры, концентрации водородных ионов, осмотического давления.
6. Гуморальная связь организма в единое целое путем транспорта биологически активных веществ.

Кровь как саморегулируемая система обладает специфическим свойством, препятствующим ее вытеканию из кровяного русла – свертыванием.

### Работа 1. ПОЛУЧЕНИЕ КРОВИ У ЖИВОТНЫХ

**Цель опыта.** Познакомиться с методикой взятия крови.

**Материалы и оборудование.** Спирт, тампоны, иглы для отбора проб крови, скарификаторы, животное.

**Подготовка и проведение опыта.** Для взятия проб венозной крови наиболее предпочтительно использовать вакуум-содержащие системы. Этот способ имеет ряд преимуществ, основным из которых является то, что кровь попадает непосредственно в закрытую пробирку, предотвращающую любой контакт ветперсонала с кровью животного.

Вакуум-содержащая система представляет собой закрытую двухкомпонентную систему – вакуумный шприц-контейнер и специальную иглу. Выделение сыворотки или соединение крови с антикоагулянтом происходит в том же объеме шприца, в который берётся кровь, т. е. после взятия крови сам шприц является транспортной пробиркой с антикоагулянтом или сывороткой.

Под действием вакуума кровь втягивается через иглу вакуумной системы напрямую из вены в пробирку и сразу же смешивается с химическим реактивом. Тщательно дозированный объем вакуума обеспечивает точное соотношение кровь/реагент в пробирке.

На основе возможностей вакуум-содержащих систем был разработан новый метод взятия крови у крупного рогатого скота из хвостовой вены:

1. Для взятия крови животное не фиксируют.
2. Хвост животного берут рукой в области средней трети и медленно поднимают вверх.

3. Место взятия крови, область 2-5-го хвостовых позвонков, дезинфицируют спиртом или 5%-м раствором йода.

4. Кровь берут в средней трети тела 2-5-го хвостовых позвонков, находящейся на линии, идущей вдоль хвоста и делящей его на две симметричные части.

5. Иглу вводят под углом  $90^\circ$  до упора на глубину 5-10 мм.

В небольших количествах кровь получают из ушной вены. У собак кровь берут из кровеносных сосудов бедра или предплечья, у кроликов – из ушной вены, у кур – из подкрыльцовой вены, сосудов сережек или гребешка, у морских свинок – из сердца, у мышей – из хвоста. Перед взятием крови животное фиксируют, на месте укола удаляют волосной покров. При необходимости кожу моют и просушивают ватой или марлей, а затем дезинфицируют спиртом или настойкой йода. У кур перья и пух выстригают или выщипывают, у мышей ограничиваются только дезинфекцией кончика хвоста, который при получении крови отрезают. Выступившую кровь насыщают в пипетку или собирают на часовое стекло, промытое антикоагулянтом. Работу проводят с полной предосторожностью. Все манипуляции выполняют вместе с помощником, который удерживает животное.

### **Контрольные вопросы**

1. Значение крови в организме. Ее основные функции. Состав крови.
2. Способы получения крови у различных животных.

## **Работа 2. ПОЛУЧЕНИЕ СЫВОРОТКИ, ПЛАЗМЫ, ДЕФИБРИНИРОВАННОЙ КРОВИ**

**Цель опыта.** Освоить методику получения сыворотки, плазмы и дефибринированной крови.

**Материалы и оборудование.** Ножницы, вата, спирт, эфир, иглы, штатив с пробирками, стеклянные палочки или металлические метелочки, раствор антикоагулянта (гепарин, трилон Б, щавелевокислый или лимоннокислый натрий).

**Подготовка и проведение опыта.** Для получения сыворотки крови в пробирку набирают 10 мл крови и оставляют на несколько часов в термостате при температуре  $37^\circ\text{C}$ . Кровь свертывается, затем сгусток уплотняется и выжимает прозрачную, желтоватого цвета жидкость – сыворотку. Сыворотка – это плазма без фибриногена.

**Получение плазмы:** в чистую пробирку или колбу наливают 1 мл лимоннокислого натрия и набирают 10 мл крови из яремной вены, содержимое тщательно перемешивают. Кровь при отстаивании или центрифугировании расслаивается на плазму (верхний, прозрачный слой) и форменные элементы (нижний слой).

**Получение дефибринированной крови:** кровь, из которой удален фибриноген, называется дефибринированной. В колбу кладут несколько

стеклянных шариков и сюда же набирают кровь (40-60 мл). Кровь взбалтывают в течение 10-15 мин, для этой цели можно использовать стеклянные бусы или металлические метелочки. Фибриноген выпадает в виде нитей на бусах или метелочках. Оставшаяся кровь содержит сыворотку и форменные элементы. Это и есть дефибринированная кровь, которую фильтруют через марлю. Осевший фибрин отмывают в воде. Он имеет вид белого волокнистого вещества.

### **Контрольные вопросы**

1. Что такое плазма, сыворотка и дефибринированная кровь?
2. Укажите иммунобиологические свойства плазмы крови.
3. Фибрин и методы его получения.

### **Работа 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЪЕМНОГО СООТНОШЕНИЯ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ И ПЛАЗМЫ (ПОКАЗАТЕЛЬ ГЕМАТОКРИТА)**

Плазма составляет 60-65 % общего объема крови, форменные элементы – 35-40 %. Это соотношение изменяется в зависимости от вида животного, возраста, функционального соотношения и при некоторых заболеваниях. Определение показателя гематокрита имеет диагностическое значение.

**Цель опыта.** Научиться определять показатель гематокрита у разных животных.

**Материалы и оборудование.** Центрифуга МГЦ-8, капилляры, гепарин, кусочек герметизирующей замазки или пластилина, стабилизированная кровь животных.

**Подготовка и проведение опыта.** Ознакомиться с инструкцией по эксплуатации микроцентрифуги МЦГ-8.

Для предотвращения свертывания крови в капилляре его необходимо обработать антикоагулянтом, погрузив в раствор гепарина в дистиллированной воде (1:5), и просушить в сушильном шкафу. Наполнить капилляр примерно на 7/8 его длины кровью. Для этого капилляр одним концом необходимо погрузить в каплю крови, а другой опустить ниже уровня капли так, чтобы кровь сама заполнила емкость. Затем надо закупорить незаполненный кровью конец капилляра замазкой на 3-4 мм, после чего уложить капилляр в канавку ротора микроцентрифуги, плотно уперев его закупоренным замазкой концом в резиновую прокладку на периферии. Номер канавки внести в протокол. Заметить время, закрыть ротор крышкой и включить микроцентрифугу в сеть. Центрифугируют капилляр с кровью 8-10 мин при 3000 об/мин. По окончании центрифугирования (после полной остановки ротора) открывают крышку ротора и на ее место устанавливают отсчетную шкалу. С ее помощью определяют величину гематокритного числа в пробе крови.

Для этого необходимо:

1. Совместить нулевую линию шкалы с границей крови и замазки путем вращения втулки.

2. Совместить линию «100» с внешней границей плазмы путем вращения шкалы за ее боковую поверхность.

3. На границе между эритроцитарным столбиком и плазмой провести по шкале отсчета значения гематокритного числа. Полученные в ходе опыта данные внести в протокол и сделать по ним заключение.

Капилляры после работы нужно сразу же промыть водой с помощью резиновой груши.

### **Контрольные вопросы**

1. Что такое гематокрит?
2. Как определить показатель гематокрита?
3. О чем можно судить по его величине?

## **Работа 4. ПОДСЧЕТ ЭРИТРОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ КАМЕРЫ ГОРЯЕВА**

Эритроциты – это красные кровяные клетки. Зрелые эритроциты млекопитающих имеют форму двояковогнутого диска и не содержат ядра. В эритроцитах содержится гемоглобин (Hb). Количество эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови исчисляется миллионами. Специфическая функция эритроцитов – перенос кислорода от легких к клеткам организма.

**Цель опыта.** Освоить методику подсчета эритроцитов в крови с помощью счетной камеры.

**Материалы и оборудование.** Микроскоп с окуляром (x7), счетная камера Горяева, меланжер для эритроцитов, 3%-й раствор хлористого натрия, спирт, вата, фильтровальная бумага, резиновая груша для промывания меланжера, дистиллированная вода, чашка для слива, скарификатор, стабилизированная кровь животного.

**Подготовка и проведение опыта.** Для подсчета эритроцитов используют счетную камеру Горяева (рис. 1). Она состоит из толстого предметного стекла, средняя часть которого разделена поперечными канавками на площадки. Центральная площадка на  $1/10 \text{ мм}$  ниже боковых и делится коротким желобком на две части, на каждой из которых нанесена сетка.

Сетка Горяева состоит из больших и малых квадратов. Часть больших квадратов разделена на малые по 16 в каждом. Сторона малого равна  $1/20 \text{ мм}$ , а его площадь –  $1/20 \text{ мм} * 1/20 \text{ мм} = 1/400 \text{ мм}^2$ .



Если на боковые площадки камеры положить покровное стекло, то расстояние между ним и сеткой, т.е. глубина камеры, окажется равным 1/10 мм, а объем пространства над одним малым квадратом будет:

$$1/400 \text{ мм}^2 * 1/10 \text{ мм} = 1/4000 \text{ мм}^3.$$

Кровь для подсчета эритроцитов разводят в специальных смесителях – меланжерах. Меланжер представляет собой стеклянную капиллярную пипетку с ампулообразным расширением в верхней части. В ампуле находится бусинка для лучшего перемешивания крови. В меланжерах для подсчета эритроцитов она красная. Нижний конец меланжера имеет две метки: «0,5» и «1». Над ампулой у меланжера для эритроцитов расположена метка «101». В результате получается, что емкость ампулы в 100 раз больше емкости для забора крови.

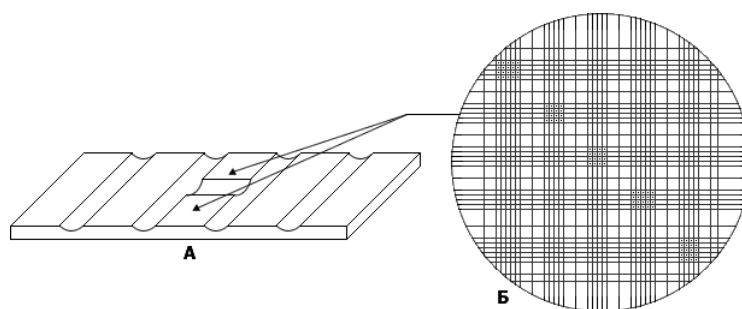


Рис.1. Камера Горяева

Прежде всего, надо рассмотреть камеру Горяева в лучах проходящего света и отыскать микросетки невооруженным глазом. Большими пальцами левой и правой рук притереть к камере покровное стекло до появления радужных колец Ньютона, сдвинув его к одному краю, этим краем камеру повернуть к себе и поместить ее на столик микроскопа так, чтобы одна из микросеток находилась под центром объектива. Отыскать микросетку при малом увеличении микроскопа и зарисовать в тетрадь пять ее больших квадратов, поделенных на 16 малых, для последующего внесения в них собственных данных. Заполнить капилляр меланжера кровью до метки «0,5». Для этого кончик меланжера надо поместить в каплю крови, а сам меланжер опустить намного ниже, так, чтобы кровь сама наполнила капилляр. Излишки крови с кончика меланжера удалить фильтровальной бумагой. Держа меланжер с кровью под углом, опустить его в стаканчик с 3 %-м раствором хлористого натрия и набрать раствор до метки «101». Кровь при этом разбавится в меланжере в 200 раз. В горизонтальном положении, зажав концы меланжера между большим и средним пальцами, встряхивать его в течение 2-3 мин. Затем из капилляра меланжера осторожно выпустить 3 капли жидкости в чашку для слива, 4-ю каплю осторожно поместить в желобок счетной камеры со стороны, приготовленной к просмотру под микроскопом сетки. В силу капиллярности

жидкость проникает под покровное стекло и заполняет объем счетной камеры. Счет эритроцитов нужно начинать через 2-3 мин, когда прекратится движение клеток и они осядут на дно камеры.

Подсчитывают эритроциты в пяти больших квадратах (разделенных на 80 малых), расположенных по диагонали сетки. Считают клетки, находящиеся внутри квадрата, а также на верхней и левой пограничных линиях, находящихся на этом квадрате.

Для подсчета количества клеток в 1 мм<sup>3</sup> крови пользуются формулой

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot B}{B},$$

где X – количество клеток в 1 мм<sup>3</sup> крови;

a – сумма клеток, подсчитанных в 80 малых квадратах;

B – разведение крови в меланжере;

4000 – 1/4000 мм<sup>3</sup> составляет объем над малым квадратом, в котором производили подсчет;

B – количество малых квадратов, в которых производили подсчет.

В сокращенном виде формула имеет вид:  $X = a \cdot 10000$ .

Закончив опыт, необходимо записать свои данные в тетрадь, произвести расчет и оформить отчет о проделанной работе.

Счетную камеру, покровное стекло и меланжер промыть и прополоскать дистиллированной водой и просушить.

### **Контрольные вопросы**

1. Строение эритроцита.
2. Функции эритроцита.
3. Единицы измерения эритроцитов в крови.
4. Строение камеры Горяева.
5. В каких квадратах сетки камеры Горяева проводят подсчет эритроцитов?

## **Работа 5. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ПОДСЧЕТА ЭРИТРОЦИТОВ**

Сущность этого метода состоит в фотоэлектрическом измерении степени поглощения взвесью эритроцитов световых волн определенной длины в инфракрасной части спектра. Этот метод более быстрый в исполнении и не менее точный, чем камерный.

Для подсчета фотоэлектроколориметрическим методом используют фотоэлектроколориметры различных марок или специальный прибор –

эритрогемометр электрический. Принцип действия этих приборов следующий: пучок света, проходящий через светофильтр и взвесь эритроцитов, попадает на фотоэлемент и смещает стрелку амперметра. Фотопоток при этом обратно пропорционален оптической плотности взвеси эритроцитов, т.е. их концентрации.

**Цель опыта.** Ознакомиться в демонстрационном опыте с подсчетом эритроцитов в крови фотоэлектроколориметрическим методом.

**Материалы и оборудование.** Электроритрогемометр (фотоэлектроколориметр), пипетка от гемометра Сали, пипетки для растворов, камера Горяева, меланжер, раствор для разведения эритроцитов (35 г хлористого натрия, 5 мл чистого формалина с плотностью 1,081-1,086, дистиллированная вода до 1000 мл).

**Подготовка и проведение опыта.** Перед работой необходимо внимательно изучить инструкцию по эксплуатации прибора и построить стандартную калибровочную кривую для данного прибора.

Фотоэлектрический эритрогемометр представляет собой стрелочный фотоэлектроколориметр, специально предназначенный для определения содержания эритроцитов и гемоглобина в крови человека при условии, что их количества не слишком отличаются от нормы.

На панели прибора вмонтированы: 1) гнездо для кювет; 2) щель для фильтров; 3) микроамперметр; 4) ручка переменного сопротивления; 5) ручка отсчета диска; 6) отсчетный диск; 7) сетевая колодка; 8) кнопка микровыключателя; 9) переключатель «гемоглобин – эритроциты»; 10) ручка подстройки диапазона; 11) сигнальная лампочка.

**Построение калибровочной кривой.** Взвесь эритроцитов в 3 %-м растворе хлористого натрия (1:400) подсчитывают несколько раз в камере Горяева, затем фотометрируют на эритрогемометре в кювете с толщиной слоя 3 мм при красном светофильтре № 8. Затем из этой взвеси готовят ряд последовательных разведений и их фотометрируют тоже. На основании полученных данных строят среднюю калибровочную кривую с указанием по оси ординат физических плотностей (экстинкции) разведенной взвеси, а по оси абсцисс – соответствующих им количеств эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови. Затем при работе с опытными образцами крови фотометрируют разведенную опытную взвесь эритроцитов (1:400) и по ее оптической плотности и калибровочной стандартной кривой определяют содержание в ней эритроцитов.

Расчет содержания эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  опытного образца цельной крови производят по следующей формуле

$$X = A \cdot B,$$

где  $X$  – искомое количество эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови;

$A$  – содержание эритроцитов в разведенной крови опытного образца; найденное по стандартной калибровочной кривой;

$B$  – разведение опытного образца.

Подсчет эритроцитов с помощью фотоэлектрического эритрогемометра производится следующим образом. В 15 мл 3 %-го раствора хлористого натрия количественно вносят 20 мкл крови пипеткой от гемометра Сали и тщательно перемешивают. Смесь переливают в кюветку «Э» эритрогемометра. По установочному светофильтру «У» производят установку контрольных точек прибора, переключенного на режим «Э». Затем на место светофильтра помещают кюветку «Э» с взвесью эритроцитов. После этого стрелка микроамперметра сместится от нулевого положения. Ручкой установочного диска возвращают стрелку прибора в нулевое положение. По шкале эритроцитов читают результат и производят подсчет эритроцитов в  $1 \text{ мм}^3$  с учетом разведения крови, используя стандартную калибровочную кривую для определения концентрации клеток во взвеси эритроцитов в растворе хлористого натрия.

### Контрольные вопросы

1. Строение и основные функции эритроцитов.
2. Количество эритроцитов в крови у разных видов сельскохозяйственных животных.
3. Какие методы подсчета эритроцитов вы знаете? В чем их сходство и отличие?

## Работа 6. ПОДСЧЕТ ТРОМБОЦИТОВ В КРОВИ

Тромбоциты (бесцветные кровяные пластинки) – клетки овальной или округлой формы. Тромбоциты млекопитающих не содержат ядра. Ядра содержат тромбоциты птиц, рыб, земноводных, пресмыкающихся и амфибий. Их специфическая функция – участие во всех фазах свертывания.

**Цель работы.** Научиться определять содержание тромбоцитов в крови.

**Материалы и оборудование.** Меланжер для эритроцитов, счетная камера Горяева, микроскоп, разбавитель для тромбоцитов (3,8 г лимоннокислого натрия, 0,57 г соляной кислоты и 0,15 г метиленовой сини в 100 мл

дистиллированной воды кипятят и охлаждают. В холодный отфильтрованный раствор добавляют 2-3 капли крепкого формалина), кровь.

**Подготовка и проведение опыта.** В меланжер для эритроцитов набрать кровь до отметки «0,5» и разбавить ее в 200 раз до метки «101» раствором для тромбоцитов, перемешать. Подождать 10 мин, чтобы тромбоциты окрасились метиленовой синью. Повторно перемешать раствор в меланжере и заполнить камеру Горяева обычным способом. Тромбоциты распределяются в камере равномерно между эритроцитами в виде голубоватых глыбок.

Подсчет тромбоцитов проводится под средним увеличением (15 х 40) микроскопа в 25 больших квадратах. Количество тромбоцитов в 1мм<sup>3</sup> крови вычисляют по формуле

$$X = \frac{A \cdot 4000 \cdot 200}{400},$$

где X – количество тромбоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови;

A – сумма клеток, подсчитанных в 400 малых квадратах;

4000 – 1/4000 мм<sup>3</sup> составляет объем над малым квадратом, в котором производили подсчет;

200 – разведение крови в меланжере;

400 – количество малых квадратов, в которых производили подсчет.

После преобразования формула имеет вид:

$$X = A \cdot 2000.$$

### **Контрольные вопросы**

1. Какую роль играют тромбоциты в организме?
2. Метод подсчета количества тромбоцитов в крови.
3. Морфологическая характеристика тромбоцитов.
4. О чем свидетельствует снижение тромбоцитов в крови?

## **Работа 7. ПОДСЧЕТ ЛЕЙКОЦИТОВ В КРОВИ**

Лейкоциты – более крупные клетки, чем эритроциты. Они имеют неодинаковую форму ядер и неоднородную цитоплазму.

Общее количество лейкоцитов в крови значительно меньше, чем эритроцитов. У млекопитающих оно составляет около 0,1-0,2 % от числа красных кровяных телец, у птиц несколько больше – 0,5-1 %.

Лейкоциты играют важную роль в защитных и восстановительных процессах в организме. Их специфические функции: фагоцитоз, образование антител, обезвреживание и удаление токсинов.

Увеличение количества лейкоцитов в крови называется лейкоцитозом. Лейкоцитоз наблюдается после приема пищи (пищеварительный), во время беременности, при мышечной работе, болевых ощущениях, сильных эмоциях и т.д. Он характерен и для воспалительных процессов.

Уменьшение количества лейкоцитов в крови называется лейкопенией. Она отмечается при некоторых инфекционных заболеваниях (паратиф телят, чума свиней).

Подсчет количества лейкоцитов в крови имеет большое диагностическое значение.

**Цель опыта.** Освоить методику подсчета лейкоцитов в крови.

**Материалы и оборудование.** Микроскоп, счетная камера Горяева, меланжер для лейкоцитов (с белой бусинкой), 2 %-й раствор уксусной кислоты, подкрашенный метиленовой синью, скарификатор, спирт, вата, фильтровальная бумага, стабилизированная кровь.

**Подготовка и проведение опыта.** В меланжер для лейкоцитов набрать кровь до отметки «0,5», а затем до отметки «11» – 2%-й раствор уксусной кислоты, подкрашенный метиленовой синью. При этом кровь разбавляется в 20 раз. В горизонтальном положении, зажав оба конца меланжера пальцами, встряхивать его в течение 2-3 мин. За это время произойдет гемолиз эритроцитов, разрушение оболочек лейкоцитов под действием уксусной кислоты и образование равномерной взвеси их ядер, которые будут окрашены метиленовой синью.

Выпустив из капилляра меланжера 2 капли жидкости в чашку для слива, следующей заполнить счетную камеру Горяева. Подсчитать лейкоциты в 25 больших квадратах и занести данные в тетрадь. Чтобы отличить ядра лейкоцитов от посторонних частиц, пользуются микровинтом микроскопа.

Рассчитывают содержание лейкоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  исследуемой крови по формуле

$$X = A \cdot 20 \cdot 10 = A \cdot 200,$$

где  $X$  – количество лейкоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови;  
 $A$  – сумма клеток в 25 больших квадратах;  
20 – разведение крови;  
10 – объем, в котором производили подсчет.

### **Контрольные вопросы**

1. Что такое лейкоцитоз? Виды лейкоцитоза.
2. Что такое лейкопения?
3. Функции лейкоцитов.
4. В каких квадратах сетки камеры Горяева проводят подсчет лейкоцитов?
5. Единицы измерения количества лейкоцитов в крови.

### **Работа 8. ПОДСЧЕТ ЭРИТРОЦИТОВ И ЛЕЙКОЦИТОВ С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕРНОЙ ПИПЕТКИ**

Неудобства работы с меланжерами при подсчете клеток (ошибки в разведении, трудности промывания и высушивания меланжеров и т.д.) устраняются при использовании пробирочного метода разведения крови.

**Цель опыта.** Освоить подсчет форменных элементов крови с применением мерной пипетки.

**Материалы и оборудование.** Пробирки Флоринского, пипетка от гемометра Сали, пипетка на 1 мл, пипетка на 5 мл, микродозатор, разбавитель для эритроцитов, разбавитель для лейкоцитов, камера Горяева, микроскоп.

**Подготовка и проведение опыта.** В пробирки Флоринского надо отмерить по 4 мл разбавителя для эритроцитов и по 0,4 мл разбавителя для лейкоцитов. Кроме того, с этой целью можно использовать серологические планшеты.

Набирают кровь в капиллярную пипетку на  $20 \text{ мм}^3$  (20 мкл) от гемометра Сали, количественно переносят в жидкость для эритроцитов. Содержимое пробирки или лунки планшета тщательно перемешивают. Кровь при этом разбавляется в 200 раз.

В другой чистый капилляр снова набирают 20 мкл крови и вносят ее в 0,4 мл разбавителя для лейкоцитов в пробирку Флоринского или лунку серологического планшета, тщательно перемешивают. Разведение крови при этом получается в 20 раз.

Далее подсчет форменных элементов крови производят обычным способом в счетной камере.

### **Контрольные вопросы**

1. Количество лейкоцитов в крови разных видов сельскохозяйственных животных.
2. Специфические функции лейкоцитов.
3. Методики подсчета лейкоцитов.

## Работа 9. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕЙКОГРАММЫ

Кроме общего количества лейкоцитов, в единице отсчета крови при оценке физиологического состояния организма важным является соотношение отдельных клеток белой крови. Лейкоциты делятся на две большие группы – зернистые и незернистые.

Зернистые лейкоциты имеют сегментированные ядра, соединенные между собой перемычками, или представленные компактной вытянутой массой. В этих клетках зерна цитоплазмы окрашиваются кислыми или основными красками.

**Эозинофилы** – большие клетки с двух- или трехлопастным ядром синевато-фиолетового цвета и с крупной зернистостью в цитоплазме, ярко красного цвета.

**Базофилы** – клетки с сегментированным ядром и крупными зернами в протоплазме, имеющими при окрашивании синий цвет.

**Нейтрофилы** – крупные клетки с резко обрисованными ядрами. При окрашивании они имеют протоплазму слегка розоватого цвета, наполненную мелкими зернышками розовато-фиолетового цвета. Сегментоядерные нейтрофилы имеют ядра в виде сегментов, связанных друг с другом тонкими нитями; молодые формы нейтрофильных гранулоцитов – палочкоядерные имеют ядро в виде палочки или подковы. Юные формы имеют большое колбасообразное или палочкообразное ядро. Встречающиеся в крови при патологических процессах незрелые формы – миелоциты – характеризуются большой величиной и крупным бесформенным ядром.

Характерной особенностью для незрелых лейкоцитов являются компактность ядра и отсутствие зернистости в протоплазме.

**Лимфоциты** – клетки с круглым ядром, небольшим поясом цитоплазмы, окрашенной в нежно-голубой цвет. Характерной особенностью лимфоцита является светлая зона вокруг ядра, резко выделяющаяся на голубом фоне окрашенной протоплазмы – перинуклеарная зона.

**Моноциты** – большие клетки, которые чаще всего имеют крупные бобо-видные ядра. Их цитоплазма окрашивается в серовато-голубой цвет, занимает много места, светлой зоны вокруг ядра нет.

Среди методов, дающих возможность объективной оценки состояния здоровья и течения патологического процесса в организме, видное место отводится исследованию морфологического состава крови. По его показателям можно судить о функциональном состоянии органов и систем и реактивности организма животных.



При некоторых заболеваниях, помимо лейкоза или лейкопении, отмечаются изменения в соотношении между отдельными формами белых кровяных клеток.

Процентное соотношение отдельных видов белых кровяных клеток носит название *лейкоцитарной формулы*.

Определение этого показателя имеет большое практическое значение.

**Цель опыта.** Познакомиться с морфологическим составом белых кровяных клеток. Овладеть методикой подсчета лейкоцитов и рассчитать лейкоцитарную формулу.

**Материалы и оборудование.** Микроскоп с иммерсионной системой (объектив х90), окрашенные мазки крови, бензин, вата, иммерсионное масло, одиннадцатиклавишный счетчик, осветитель ОИ-19.

**Подготовка и проведение опыта.** Выведение лейкоцитарной формулы производится в заранее приготовленном и соответствующим образом окрашенном мазке крови.

**Техника приготовления и окраски мазка.** На чистое предметное стекло, хранившееся в банке со спиртом и эфиром, наносят каплю крови. К ней под углом в 45° подводят покровное стекло или отшлифованный конец предметного стекла так, чтобы угол был равномерно заполнен кровью, и легким, быстрым движением проводят по стеклу. Хорошим мазком считается такой, в котором кровь располагается на стекле в виде равномерной, не выходящей за края стекла, тонкой полоски. Мазок высушивают на воздухе и окрашивают одним из способов, в частности по Паппенгейму: на нефиксированный мазок наносят пипеткой 10-15 капель краски Мая-Грюнвальда (которая одновременно фиксирует мазок за счет входящего в состав краски метанола). Через 3 мин прибавляют столько же воды и продолжают окрашивание еще 1 мин, после чего краситель смывают водой. Затем на мазок на 15-20 мин наносят рабочий раствор краски Романовского. После этого краску сливают, мазок промывают водой и высушивают на воздухе. Этот способ окраски считается наилучшим. На мазок наносят каплю иммерсионного масла и просматривают его в тонкой части под микроскопом при окуляре х10 и объективе х90. Подсчет клеток производят в 2-4 полях, методом «зигзага», пока не насчитают 100-200 клеток. Учет лейкоцитарных клеток ведут 11-клавишным счетчиком. При подсчете 100-200 лейкоцитов раздается звонок, указывающий на окончание подсчета. Полученные результаты записывают в тетрадь в виде таблицы.

Таблица для записи лейкоцитарной формулы, %

Нейтрофилы			Базофилы	Эозинофилы	Лимфоциты	Моноциты
юные	палочкоядерные	сегментоядерные				

После окончания работы необходимо удалить остатки иммерсионного масла с объектива микроскопа и предметного стекла с мазком крови при помощи ватного тампона, слегка смоченного бензином.

**Определение лейкоцитарного профиля** (абсолютного числа лейкоцитов). При исследовании лейкоцитарной формулы нельзя выявить абсолютное содержание каждой группы лейкоцитов. Это можно установить путем определения лейкоцитарного профиля, для чего нужны результаты подсчета общего количества лейкоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  и данные лейкоцитарной формулы. Для расчета лейкоцитарного профиля необходимо общее количество лейкоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  умножить на процентное содержание данной группы лейкоцитов и это произведение разделить на 100.

Лейкоцитарный профиль можно предоставить в виде графика.

**Определение гемоцитологического показателя (ГЦП).** Этот показатель представляет собой отношение наиболее крупных групп незернистых лейкоцитов к зернистым, т. е. лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам. ГЦП используется при оценке физиологического состояния организма.

### Контрольные вопросы

1. Классификация лейкоцитов.
2. Метод определения лейкограммы.
3. Методы окраски мазков крови.
4. Методы фиксации мазков крови.
5. Диагностическое значение лейкограммы.

## Работа 10. ГЕМОГЛОБИН КРОВИ И ЕГО ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Гемоглобин (Hb) – дыхательный пигмент крови позвоночных, содержащийся в эритроцитах и составляющий до 90 % их сухого вещества. Он построен из белковой части – глобина (96 %) и простетической группы – гема, содержащего железо.

Специфическая функция гемоглобина – перенос кислорода к тканям. По количеству гемоглобина судят об окислительно-восстановительной способности крови.

Содержание гемоглобина в крови зависит от вида, возраста, пола и состояния здоровья животного. В связи с этим определение гемоглобина является важнейшей частью клинического анализа крови.

**Цель опыта.** Ознакомиться с колориметрическим методом определения гемоглобина с помощью гемометра Сали и с помощью электрического эритрогемометра.

**Материалы и оборудование.** Гемометр Сали, стабилизированная кровь, скарификатор, 0,1 н раствор соляной кислоты, дистиллированная вода, спирт, вата, фильтровальная бумага, 0,1%-й раствор карбоната натрия, электроэритрогемометр.

**Подготовка и проведение опыта.** Для определения гемоглобина используют специальный прибор – гемометр Сали. Он имеет три пробирки, вставленные в пластмассовый штатив, задняя стенка которого сделана из матового стекла, рассеивающего свет. Две крайние пробирки прибора запаены и содержат стандартный раствор солянокислого гематина, в котором 16,7 г % гемоглобина. Средняя пробирка гемометра открытая, пустая и градуированная в грамм-процентах (г%) гемоглобина.

В градуированную пробирку с помощью пипетки налить до нижней метки 0,1 н раствор соляной кислоты. В капиллярную пипетку, приложенную к гемометру, набрать до метки 0,02 мл (20 мкл) крови. Излишки ее удалить фильтровальной бумагой, пипетку с кровью опустить на дно пробирки с раствором соляной кислоты и осторожно выдуть кровь так, чтобы верхний слой раствора остался прозрачным. Промыть пипетку от крови соляной кислотой из верхнего слоя. Кровь в пробирке тщательно перемешать, слегка ударяя пальцем по нижней части пробирки, и заметить время. Ровно через 5 мин, когда пройдет гемолиз эритроцитов и образование солянокислого гематина, в пробирку добавить дистиллированную воду по каплям и ее содержимое перемешать стеклянной палочкой. Воду добавляют до тех пор, пока цвет жидкости в пробирке не станет одинаковым со стандартами солянокислого гематина. Деление, до которого поднялась жидкость в градуированной пробирке, показывает содержание гемоглобина в крови в грамм-процентах.

Для определения гемоглобина в крови можно использовать электрический эритрогемометр. Принцип работы этого прибора – фотоэлектрическое измерение степени поглощения света раствором гемоглобина.

В пробирку наливают 5 мл 0,1 %-го раствора карбоната натрия и вносят микропипеткой от гемометра Сали 0,04 мл (40 мкл) исследуемой крови. Содержимое пробирки тщательно перемешивают, выливают в кюветку с отметкой «Г» и помещают в прибор. Переводят переключатель «Э-Г» в положение «Г», устанавливают светофильтр «К». Вращением ручки отсчетного диска стрелку микроамперметра приводят в нулевое положение. Цифра на шкале гемоглобина, совпадающая с риской на стекле эритрогемометра, показывает количество гемоглобина в пробе в грамм-процентах.

Для того чтобы полученные данные выразить в общепринятой системе, полученный результат надо умножить на 10, и тогда содержание гемоглобина получится в граммах на литр (г/л).

### **Контрольные вопросы**

1. Гемоглобин, особенности структуры его молекулы.
2. Функции гемоглобина в организме.
3. Методы определения гемоглобина.

## **Работа 11. ВЫЧИСЛЕНИЕ ЦВЕТНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ КРОВИ**

При патологических изменениях красной крови количество гемоглобина и число эритроцитов во многих случаях изменяется не в одинаковой степени: чаще количество гемоглобина изменяется резче, чем число эритроцитов.

Соотношение между количеством гемоглобина в крови и числом эритроцитов носит название цветного показателя крови. Он определяется как частное от деления относительного содержания гемоглобина в крови (Hb) на относительное количество эритроцитов (Э). Этот показатель характеризует степень насыщения эритроцитов гемоглобином. Определение цветного показателя крови имеет большое диагностическое значение.

**Цель работы.** Освоить принцип и способ расчета цветного показателя.

**Содержание работы.** Цветной показатель крови (ЦП) вычисляют по следующей формуле:

$$\text{ЦП} = \frac{\text{Hb}_x}{\text{Hb}_н} : \frac{\text{Э}_x}{\text{Э}_н} = \frac{\text{Hb}_x \cdot \text{Э}_н}{\text{Hb}_н \cdot \text{Э}_x},$$

где  $\text{Hb}_н$  – среднее количество гемоглобина в крови здорового животного;

$\bar{Э}_н$  – среднее количество эритроцитов в крови здорового животного;

$Hb_x$  – количество гемоглобина в крови исследуемого животного;

$\bar{Э}_x$  – количество эритроцитов в крови исследуемого животного.

В норме цветной показатель близок к единице. Патологическими считают отклонения показателя свыше 15 %.

В произведенную выше формулу подставить собственные ранее полученные данные о содержании эритроцитов и гемоглобина в крови обследованного животного. Сведения о величине этих параметров у здоровых животных взять из приложения. Рассчитать цветной показатель крови и сделать заключение на основании полученного результата.

### **Контрольные вопросы**

1. Свойства гемоглобина и его важнейших форм и соединений.
2. Особенности гемоглобина плода и животных раннего возраста.
3. Цветной показатель крови.

## **Работа 12. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ (СОЭ)**

Скорость оседания эритроцитов в цельной стабилизированной крови, заключенной в сосуд, является неспецифическим показателем состояния здоровья. Она отличается у разных видов животных и зависит от количества эритроцитов в крови, их электрического заряда, состояния и соотношения фракций белков плазмы и других факторов. Диагностическое значение имеет не только абсолютная величина скорости оседания эритроцитов, но и ее динамика при развитии патологического процесса.

**Цель опыта.** Научиться определять скорость оседания эритроцитов с помощью методики Панченкова.

**Материалы и оборудование.** Прибор Панченкова, часовое стекло, 5%-й раствор лимоннокислого натрия, часы. Прибор Панченкова состоит из 4-10 градуированных пипеток, вставленных в штатив.

**Подготовка и проведение опыта.** Промыв пипетку 5%-м раствором лимоннокислого натрия, наполнить ее этим же раствором до метки «Р» и выдуть его на часовое стекло. Этой же пипеткой дважды набрать до метки «К» исследуемую кровь и выпустить обе порции ее на часовое стекло, тщательно смешав с уже имеющимся раствором лимоннокислого натрия. Затем пипетку

наполнить стабилизированной кровью с часового стекла до метки «К» и, зажав ее верхний конец пальцем, вертикально поместить в штатив, заметив время.

Результаты опыта учитывают через 15, 30, 45 и 60 мин. Скорость оседания эритроцитов выражают в миллиметрах высоты столбика плазмы за определенное время.

### **Контрольные вопросы**

1. Методы определения СОЭ.
2. Факторы, влияющие на скорость оседания эритроцитов.
3. О чем свидетельствует изменение скорости оседания эритроцитов?

## **Работа 13. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОСТАЗА**

Свертывание крови определяется временем от начала выхода крови из кровеносного сосуда до образования кровяного сгустка.

**Цель опыта.** Ознакомиться с некоторыми биологическими свойствами крови.

**Материалы и оборудование.** Обезжиренные предметные стекла, скарификаторы, вата, спирт, секундомер.

**Подготовка и проведение опыта.** Берут две капли крови и помещают их на обезжиренное предметное стекло. Через каждую минуту наклоняют стекло с кровью и повторяют до тех пор, пока она не свернется и не будет скатываться по стеклу в виде жидкой капли. Время от нанесения крови на стекло до ее свертывания будет соответствовать скорости свертывания. У лошадей оно в среднем составляет 9-12 мин, у собак – 2-4 и у кур – 0,5-2 мин.

Скорость свертывания крови определяется различными методами. Один из них – метод Фонио. Свежевзятую венозную кровь в количестве 10 капель помещают на предметное или часовое стекло и засекают время. Концом запаянной пипетки проводят по поверхности крови, появление первых нитей фибрина считают началом свертывания.

**Время свертывания, время кровотечения (ВК)** – интервал между взятием крови и появлением в ней сгустка фибрина. Увеличение времени свертывания крови, или *гипокоагуляция* (пониженная свертываемость крови), наблюдается при:

- недостатке ряда плазменных факторов свертывания;
- действии антикоагулянтов (отравление, передозировка лекарственных

средств);

- заболеваниях печени;
- авитаминозах С, К, Р;
- почечной недостаточности.

Уменьшение времени свертывания, или **гиперкоагуляция** (повышенная свертываемость крови), отмечается при:

- массивных кровотечениях;
- ДВС-синдроме;
- тромбоцитемии;
- дегидратации;
- применении некоторых лекарственных средств (эстрогены, прогестины).

Остальные показатели коагулограммы определяются также либо обычными лабораторными методами, либо с применением экспресс-тестов. Ниже приводятся некоторые традиционные способы определения показателей коагулограммы.

**Протромбиновый индекс (ПТИ, ПИ)** – это отношение свертывания стандартной («нормальной») плазмы крови к времени свертывания исследуемого образца крови, выраженное в процентах.

**Протромбиновое время (ПВ)** – время образования сгустка (рекальцификации плазмы) при добавлении в нее кальция и тканевого тромбопластина.

ПТИ = ПВ в норме: ПВ обследуемого животного = 80-100 %.

*Укорочение ПВ и увеличение ПТИ* свидетельствуют о повышении свертываемости и риске образования тромбозов.

*Удлинение ПВ и уменьшение ПТИ (ПИ)* наблюдаются при:

- дефиците витамина и других факторов свертывания;
- патологиях печени;
- приеме непрямых антикоагулянтов;
- ДВС-синдроме.

**Тромбиновое время (ТВ)** – время, за которое превращается фибриноген в фибрин. Оценка тромбинового времени заключается в определении времени свертывания плазмы при добавлении в нее тромбина со стандартной активностью, обладающего способностью индуцировать превращение фибриногена в фибрин без участия других факторов свертывания.

*Увеличение ТВ* отмечается при:

- ДВС-синдроме;
- врожденной недостаточности фибриногена;
- острым фибринолизе;

– повышенном содержании в крови ингибиторов тромбина (например, гепарина).

*Укорочение ТВ* отмечается при избытке фибриногена или наличии парапротеинов.

***Активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время (АЧТВ, АПТВ))*** – используется для определения плазменных дефектов образования тромбопластина. Увеличение АЧТВ отмечается при гипокоагуляции (дефиците факторов гемостаза II, V, VIII, IX, XI, XII), ДВС-синдроме, при применении гепарина. Укорочение АЧТВ свидетельствует об активации гемостаза, увеличении активности факторов плазмы.

### ***Определение тромбопластинового времени и факторов протромбинового времени по Квику***

**Цель опыта.** Определение тромбопластинового времени и факторов протромбинового времени.

**Материалы и оборудование.** Пробирки, скарификаторы, вата, спирт, секундомер, суспензия тромбопластина, хлористый кальций, водяная баня.

**Подготовка и проведение опыта.** Определение тромбопластинового времени и факторов протромбинового времени по Квику основывается на измерении времени свертывания плазмы крови при наличии оптимальных условий для образования тромбина.

В пробирку добавляют 0,1 мл суспензии тромбопластина и 0,1 мл хлористого кальция, нагревают на водяной бане до 37°C и через 10 с прибавляют 0,1 мл испытуемой плазмы. Отмечают время свертывания плазмы по секундомеру с момента добавления плазмы. Исследование повторяют раза.

### ***Определение фибриногена***

**Цель опыта.** Определение фибриногена.

**Материалы и оборудование.** Пробирки, скарификаторы, вата, спирт, секундомер, кальция хлорид, весы.

**Подготовка и проведение опыта.** К 1 мл цитратной плазмы добавляют 0,4 мл 5 %-го кальция хлорида, смесь встряхивают и замечают время до момента свертывания. Образовавшийся сгусток фибрина наматывают на стеклянную палочку, помещают в фильтровальную бумагу, отжимают и взвешивают. Для определения фибриногена в миллиграмм-процентах полученный результат умножают на коэффициент 22,2.



### Контрольные вопросы

1. Что такое гемостаз?
2. Дайте определение первичного и вторичного гемостаза.
3. Что такое гипокоагуляция и гиперкоагуляция?
4. Дайте определение понятия «время кровотечения».
5. Что такое протромбиновый индекс и протромбиновое время?
6. Что такое тромбиновое время?
7. Роль фибриногена в процессе образования тромба.

### Работа 14. ГЕМОЛИЗ

Гемолизом называется разрушение эритроцитов, сопровождающееся растворением гемоглобина в плазме крови или другой окружающей жидкости. Гемолиз возникает при повреждении эритроцитов химическими агентами, при замораживании крови, при значительном понижении осмотического давления среды, под действием поверхностно-активных веществ и гемолизина.

**Цель опыта.** Исследовать резистентность эритроцитов в зависимости от концентрации раствора хлористого натрия, овладеть методикой определения резистентности эритроцитов.

#### **Подготовка и проведение опыта.**

**Осмотический гемолиз. Определение осмотической устойчивости эритроцитов.** Эритроциты характеризуются различной устойчивостью (резистентностью) по отношению к повреждающим факторам. Устойчивость эритроцитов можно количественно определить с помощью гипотонических растворов хлористого натрия различной концентрации. Семь пробирок ставят в штатив, в каждую наливают 1 %-й раствор хлористого натрия: в 1-ю пробирку – 9 мл, во 2-ю – 7 мл, в 3-ю – 5 мл, в 4-ю – 4 мл, в 5-ю – 3 мл, в 6-ю – 2 мл, в 7-ю – 1 мл. Затем в каждую пробирку добавляют до 10 мл дистиллированную воду. Получают следующие концентрации хлористого натрия: в 1-й пробирке – 0,9 %, во 2-й – 0,7 %, в 3-й – 0,5 %, в 4-й – 0,4 %, в 5-й – 0,3 %, в 6-й – 0,2 %, в 7-й – 0,1 %.

В каждую пробирку пипеткой вносят по 5 капель крови или по 0,3 мл взвеси эритроцитов, тщательно перемешивают, через 10-30 мин учитывают результаты опыта.

По степени прозрачности жидкости в пробирках определяют, где произошел гемолиз и в какой мере. При полном гемолизе жидкость прозрачна и относительно ярко окрашена (лаковая кровь). При частичном гемолизе раствор

окрашен слабее, а в нижней части пробирки жидкость мутная. При отсутствии гемолиза жидкость окрашена слабо, она мутная, за исключением верхнего ободка.

Минимальную устойчивость эритроцитов по появлению признаков гемолиза и максимальную устойчивость по возникновению полного гемолиза выражают в процентной концентрации хлористого натрия.

В норме колебания устойчивости эритроцитов лежат в пределах 0,48 % (минимум) и 0,34 % (максимум) раствора хлористого натрия.

**Химический гемолиз.** Берут 3 пробирки, наливают в них по 5 мл изотонического раствора хлористого натрия и добавляют по 5 капель крови или по 0,3 мл взвеси эритроцитов, взбалтывают.

Затем приливают в одну пробирку 0,5 мл 3н раствора аммиака, в другую – 0,5 мл 1н раствора соляной кислоты, в третью – 0,5 мл эфира или хлороформа. Содержимое пробирок взбалтывают и ставят на 30-40 мин в штатив. Наблюдают за изменением цвета и прозрачности жидкости в пробирках.

В заключении по опытам необходимо указать причины гемолиза.

### **Контрольные вопросы**

1. Минеральные и органические составные части плазмы крови.
2. Белки плазмы крови и их значение.
3. Осмотическое давление крови. Величина. Его значение. Способы измерения.
4. Онкотическое давление. Его происхождение, величина, значение.
5. Гемолиз, его виды. Химический гемолиз. Осмотический гемолиз и осмотическая устойчивость эритроцитов.
6. Концентрация водородных ионов в плазме крови и буферные системы.

### **Работа 15. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУПП КРОВИ**

Изучение условий агглютинации (склеивания) эритроцитов привело к открытию групп крови и сделало возможным ее переливание. В эритроцитах могут содержаться агглютиногены А и В, а в сыворотке – агглютинины  $\alpha$  (альфа) и  $\beta$  (бета). В зависимости от наличия или отсутствия в эритроцитах агглютиногенов А и В различают четыре группы крови: группу 1, или 0 ( $\alpha\beta$ ); группу 2, или А ( $\beta$ ); группу 3, или В ( $\alpha$ ) и группу 4, или АВ (в скобках указаны агглютинины). В сыворотке 4 группы агглютининов  $\alpha$  и  $\beta$  нет. Кровь донора (человека, ее отдающего) считается совместимой с кровью человека,

которому переливают кровь (реципиент), если эритроциты донора не агглютинируются в сыворотке реципиента.

**Цель опыта.** Овладеть методикой определения групп крови у человека.

**Материалы и оборудование.** Скарификаторы, вата, спирт, предметные стекла, глазные пипетки, карандаш по стеклу, стандартные сыворотки 1, 2, 3-й групп крови.

**Подготовка и проведение опыта.** На предметное стекло наносят сыворотку 1, 2, 3-й групп. Затем получают каплю крови, берут ее уголком чистого предметного стекла, переносят в сыворотку 1-й группы и тщательно перемешивают. Вторую каплю крови таким же образом смешивают с сывороткой 2-й группы, третью – с сывороткой 3-й группы. При этом нельзя допускать смешивания стандартных сывороток. Слегка покачивая предметное стекло в течение 2-5 мин, наблюдают за каплями. Агглютинация видна в форме мелких красных крупинок, постепенно увеличивающихся в размерах на фоне светлеющей смеси. На основании наличия или отсутствия агглютинации делают вывод о группе исследуемой крови. Во избежание псевдоагглютинации через 5 мин после смешивания можно в каждую пробу внести по капле физиологического раствора и снова перемешать. Затем читают результат:

- 1-я группа – агглютинация отсутствует с 1, 2, 3-й группой сыворотки;
- 2-я группа – отмечается агглютинация с сывороткой 1-й и 3-й групп;
- 3-я группа – агглютинация с сывороткой 1-й и 2-й групп;
- 4-я группа – агглютинация с сывороткой всех трех групп.

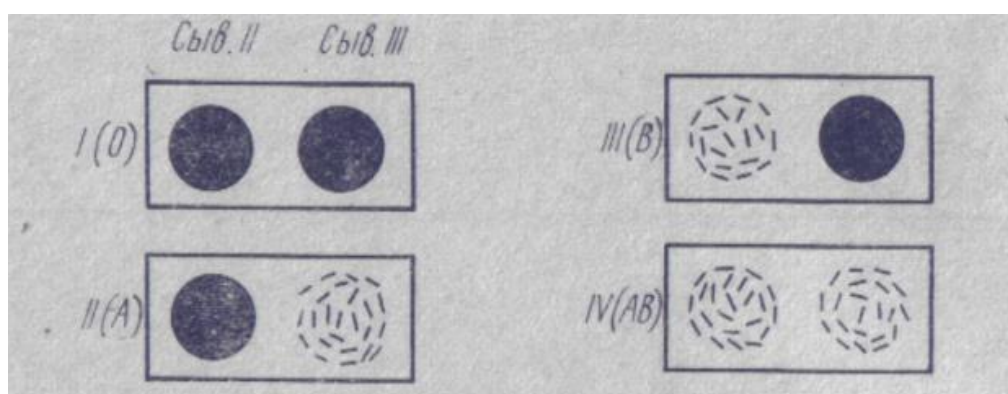


Рис. 2. Схема определения групп крови

Результаты проведенных исследований необходимо записать в тетрадь и составить схему совместимости крови по группам.

В ветеринарной практике при переливании крови обычно ограничиваются проведением реакции на совместимость и биологической пробы.

**Реакция на совместимость.** Сущность реакции заключается в том, что смешиваются эритроциты донора с плазмой или сывороткой реципиента. Если в этом случае не происходит реакции агглютинации, то кровь считается совместимой.

Существуют различные методы определения совместимости крови и реципиента (капельные, пробирочные).

Проба Климансо (капельный метод): на предметное стекло наносится одна капля раствора антикоагулянта, затем прибавляется одна большая капля крови реципиента и 2-3 капли хлороформа (для разрушения эритроцитов реципиента). После испарения хлороформа прибавляется небольшая капля крови донора. Реакция читается через 8-10 мин. Если не произойдет агглютинации эритроцитов донора, то кровь считается совместимой.

**Биологическая проба.** Сводится к тому, что кровь, предназначенную для целей переливания реципиенту, вводят не всю сразу, а небольшими порциями и следят за состоянием животного. Если не наблюдается никаких изменений в состоянии организма животного, то кровь считается совместимой, и можно продолжать её дальнейшее переливание. В случае несовместимости крови донора и реципиента может возникнуть гемотрансфузионный шок.

### **Контрольные вопросы**

1. Что такое агглютиногены?
2. Что такое агглютинины?
3. Роль агглютиногенов и агглютининов в определении группы крови.
4. Что такое агглютинация и в каких случаях она появляется?
5. Сущность реакции крови на совместимость.
6. Что такое биологическая проба? Метод её постановки.

### **Работа 16. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АГГЛЮТИНАЦИОННОГО ТИТРА СЫВОРОТКИ**

Титр – это агглютинационная сила сыворотки, т. е. её разведение, при котором она ещё сохраняет свою активность и способна вызывать склеивание эритроцитов в случае несовместимости крови.

**Материалы и оборудование.** Семь предметных стёкол, карандаш по стеклу, пипетки от аппарата Панченкова, физиологический раствор.

**Подготовка и проведение опыта.** Пипеткой от аппарата Панченкова набирают физиологический раствор до метки «Р» и наносят такую дозу на каждое из 7 предметных стёкол. Затем к капле физиологического раствора на

первом предметном стекле добавляют той же пипеткой равную дозу испытуемой сыворотки и всё тщательно перемешивают стеклянной палочкой.

С первого стекла дозу переносят на второе, потом на следующее и т.д. При этом содержимое постоянно перемешивают, а с 7-го стекла дозу удаляют. Таким образом, получают сыворотку с разведениями: 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64. К каждой капле полученного разведения сыворотки добавляют по маленькой капле крови, взятой из пальца руки, или каплю 10 %-й эмульсии неотмытых эритроцитов в физиологическом растворе. Эмульсию эритроцитов готовят следующим образом: в меланжер для разведения лейкоцитов до метки «I» набирают кровь, а до метки «II» физиологический раствор и встряхивают его в течение 1-2 мин. Размешивают все капли углом предметного стекла (для каждой капли свой угол стекла) и, покачивая по очереди все стекла, определяют то стекло, на котором произошла агглютинация, учитывая степень разведения сыворотки (т. е. титр) на этом стекле. Титр этого стекла и будет агглютинационным титром испытуемой сыворотки.

### **Контрольные вопросы**

1. Что такое агглютинационный титр?
2. Сущность реакции агглютинации.
3. Метод определения агглютинационного титра.

## **Работа 17. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУС-ФАКТОРА**

При переливании крови имеет значение определение резус-принадлежности. Установлено, что в эритроцитах 85% людей помимо агглютиногенов А и В содержится особый антиген, названный резус-фактором. У 15 % людей эритроциты этого фактора не содержат, кровь их резус-отрицательна.

Резус-фактор, введенный при переливании крови человеку с резус-отрицательной принадлежностью, вызывает в сыворотке последнего образование антител, которые, соединяясь с резус-положительными эритроцитами, агглютинируют и разрушают их, вызывая гемотрансфузионный шок.

**Цель опыта.** Познакомиться с методикой определения резус-фактора.

**Материалы и оборудование.** Скарификаторы, вата, спирт, стандартные антирезусные сыворотки всех групп крови, чашка Петри, стеклянные палочки, водяная баня.

**Подготовка и проведение опыта.** На практических занятиях может быть использован так называемый экспресс-метод, предложенный Т.Г. Соловьёвой. Он более простой, но менее надёжный. Исследование проводят в чашке Петри, которая должна быть чистой и сухой. Для этого её предварительно прокаливают в сушильном шкафу при температуре 80-100°C в течение 15-20 мин. На чашку Петри наносят на некотором расстоянии друг от друга 2 капли стандартной антирезусной сыворотки той группы по системе АВ0, к которой принадлежит кровь испытуемого. В каждую из этих капель вносят по маленькой капле крови, взятой из прокола пальца испытуемого, концами стеклянной палочки или углами предметного стекла. Перемешивают и ставят на водяную баню при температуре 46°C на 10 мин. Если кровь испытуемого содержит резус-фактор, то происходит агглютинация эритроцитов. В случае отсутствия резус-фактора агглютинации не происходит.

**Примечание.** Для исследования по этому способу может быть использована кровь испытуемого, смешанная со стандартной сывороткой для определения группы по системе АВ0. Чистой пипеткой берут каплю этой смеси (из капли, где нет агглютинации) и смешивают с каплей антирезусной сыворотки соответствующей группы системы АВ0.

Иногда на поверхности капле антирезусной сыворотки, смешанной с кровью, может образовываться сеточка фибрина. Её можно удалить сдуванием.

### **Контрольные вопросы**

1. Резус-фактор, его значение при переливании крови.
2. Конфликт по резус-фактору между организмом матери и плода.
3. Правило переливания крови.
4. Гемотрансфузионный шок.

## **РАЗДЕЛ II. КРОВООБРАЩЕНИЕ**

Основным органом, обеспечивающим движение крови в организме, является сердце, функция которого складывается из поочередного сокращения и расслабления его мышцы. При такой работе сердца и определённом тоне различных отделов кровеносной системы создаётся разность давления крови и непрерывность её движения в сосудах. В результате постоянного кровообращения ко всем тканям тела доставляются питательные вещества

(кислород, соли, гормоны и другие соединения) и удаляются из организма продукты обмена.

### **Работа 18. ПРОВОДЯЩАЯ СИСТЕМА СЕРДЦА. ОПЫТ С ЛИГАТУРАМИ СТАННИУСА** (виртуальная физиология)

Проводимость в сердце обеспечивается нервно-мышечными образованиями, которые у высших позвоночных животных представлены узлом Кис-Флека, расположенным в месте впадения передней и задней полых вен в правое предсердие, а также узлом Ашофф-Тавара, который находится справа в перегородке между предсердиями и желудочками. От этого узла отходит пучок Гиса. В пределах желудочков он делится на две ножки, а в стенках желудочков ножки распадаются на мелкие волокна Пуркинье.

У лягушки проводящая система сердца состоит из синусного узла Ремака, обладающего высокой степенью автоматизма и выполняющего функцию водителя ритма к узлу Бидера, находящемуся в перегородке между предсердиями. При наличии этой системы возбуждение в мышце сердца проводится от вышерасположенного её участка в нижние отделы, что обеспечивает ритмичное поочередное сокращение вначале предсердий, а затем желудочков.

Физиологическое значение отдельных звеньев проводящей системы сердца можно выяснить путём их изоляции с помощью лигатур Станниуса.

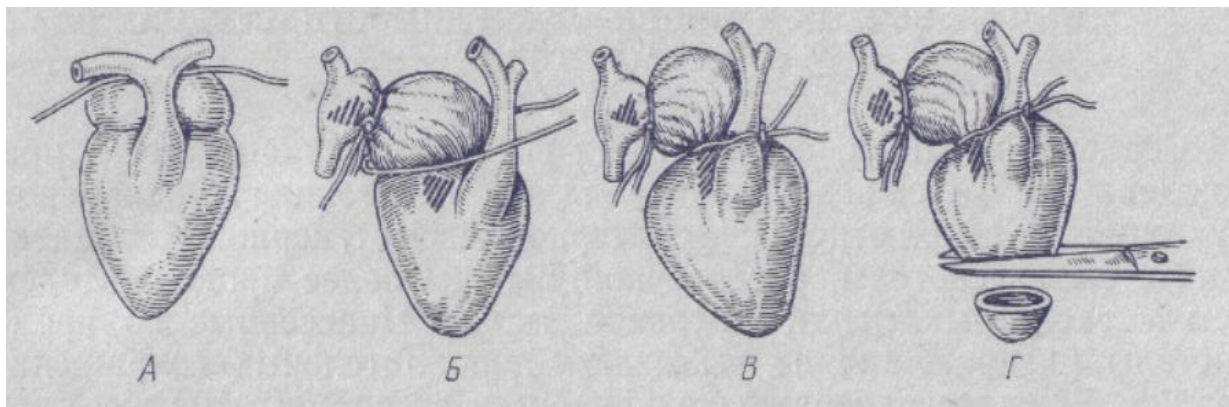


Рис. 3. Наложение лигатур Станниуса:

А – подведена нитка под дуги аорты; Б – затянута первая лигатура, подведена вторая, синус отделен от предсердий; В – затянута вторая лигатура; Г – удалена верхушка

**Цель опыта.** Определить свойства проводимости и автоматизма разных отделов сердца.

**Материалы и оборудование.** Лягушка, препаровальный набор, лигатуры, тампоны, раствор Рингера для холоднокровных, чашки Петри, стёкла.

**Подготовка и проведение опыта.** Лягушку обездвигивают, вскрывают грудобрюшную полость, разрезают ткани в направлении правой и левой грудных конечностей и отсекают этот лоскут. С сердца снимают перикард. На сердечную уздечку накладывают лигатуру. Разрезают уздечку и поворачивают сердце так, чтобы были видны венозный синус, предсердия и желудочек. Подсчитывают количество сердечных циклов в минуту. Накладывают первую лигатуру Станниуса между венозным синусом и предсердиями. После её наложения частота сокращений венозного синуса остаётся прежней, предсердия и желудочек останавливаются. Не дожидаясь восстановления сокращений, накладывают вторую лигатуру Станниуса между предсердиями и желудочком. При перевязке восстанавливаются сокращения желудочка, так как механическое раздражение узла Бидера вызывает его автоматическую деятельность. Считают количество сокращений желудочка. Обычно он сокращается значительно реже, чем венозный синус. Результаты опыта заносят в таблицу и производят их анализ.

Отделы сердца	До перевязки	После наложения лигатур	
		первой	второй
Венозный синус			
Предсердия			
Желудочек			

### Контрольные вопросы

1. Из каких элементов состоит проводящая система сердца?
2. Что такое автоматизм?

## Работа 19. БИОТОКИ СЕРДЦА И ИХ РЕГИСТРАЦИЯ (ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИЯ)

Электрокардиография – регистрация электрических явлений, происходящих при деятельности сердца. Электрокардиография (ЭКГ) – кривая записи биотоков. Она отражает процесс возникновения и скорость распространения возбуждения по проводящей системе и мускулатуре сердца. При возникновении разности потенциалов между возбуждёнными и покоящимися участками сердца электрические силовые линии



распространяются по всему телу, что позволяет регистрировать ЭКГ в трёх стандартных отведениях:

I – от правой и левой рук;

II – от правой руки и левой ноги;

III – от левой ноги и левой руки.

**Цель опыта.** Ознакомиться с методикой записи и расшифровки электрокардиограммы.

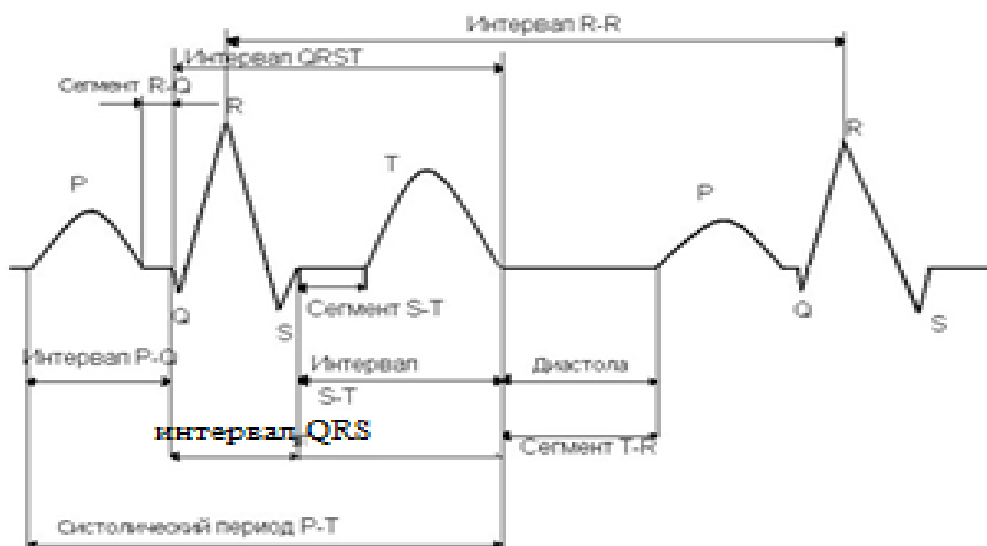
**Материалы и оборудование.** Электрокардиограф, насыщенный раствор хлористого натрия, вата, спирт, марлевые салфетки.

**Подготовка и проведение опыта.** Правильно наложить электроды на конечности испытуемого. Для этого участки тела, куда накладываются электроды, протереть спиртом. Между кожей и электродами поместить марлевые салфетки, смоченные раствором хлористого натрия. Плотнo укрепить электроды с помощью резиновых бинтов. Подсоединить к электродам штекеры проводов электрокардиографа: красный – к правой руке, жёлтый – к левой, зелёный – к левой ноге, чёрный (нулевой) – к правой ноге. Заземлить электрокардиограф, записать на нём контрольный милливольт и произвести запись электрокардиограммы в трёх стандартных отведениях.

Электрокардиограмма представляет собой кривую, состоящую из зубцов, интервалов и сегментов. Интервал включает в себя зубец или комплекс зубцов и сегментов. Сегмент представлен отрезком прямой, расположенной между зубцами. На ЭКГ регистрируют пять зубцов – P, Q, R, S, T. Три зубца (P, R и T), идущие вверх от изопотенциальной линии, являются положительными, а два зубца (Q и S), направленные вниз от нее, – отрицательными. Высота зубцов даёт представление об интенсивности процессов возбуждения в сердце, а длительность – о времени возбуждения отделов сердца. Зубец P – сумма потенциалов предсердий. Возникает в период распространения возбуждения по предсердиям. У крупных животных (лошадь, корова) зубец P обычно бывает раздвоенным, так как возбуждение вначале возникает в правом предсердии (в синусном узле) и только спустя 0,01 с достигает левого предсердия. Интервал P-Q – время прохождения возбуждения от предсердий к желудочкам. Этот интервал соответствует атриовентрикулярной задержке возбуждения. Зубец Q – возбуждение внутренней поверхности мышц желудочков, правой сосочковой мышцы, перегородки, верхушки левого и основания правого желудочков. Зубец R – распространение возбуждения в толщу наружной поверхности мышцы сердца и основания обоих желудочков. Зубец S – полный охват возбуждением желудочков. Интервал S-T отражает отсутствие разницы потенциалов в период, когда миокард охвачен возбуждением. В норме он изопотенциален. Зубец T –

фаза восстановления (реполяризации) миокарда желудочков. QRS – время, в течение которого возбуждение успевает полностью охватить мышцы желудочков. QRST – время возбуждения и восстановления миокарда желудочков. Интервал Т-Р называется изоэлектрической диастолой сердца. Интервал R-R (или P-P) соответствует полному циклу сердечной деятельности.

При анализе ЭКГ учитывают высоту зубцов, их направленность от изопотенциальной линии, продолжительность интервалов, амплитуду зубцов и форму зубца. ЭКГ в комплексе с другими клиническими методами исследования применяется для диагностики заболеваний сердца, особенно таких, которые связаны с расстройством возбудимости и проводимости сердечной мышцы. ЭКГ используется в физиологических исследованиях для изучения состояния сердечно-сосудистой системы.



## Контрольные вопросы

3. Значение электрокардиограммы для диагностики сердечных заболеваний.

## **Работа 20. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРОВЯНОГО ДАВЛЕНИЯ**

Кровь оказывает на сосудистые стенки определённое давление. Его величина зависит от силы и частоты сокращений сердца и от сопротивления эластических стенок кровеносных сосудов. В одной и той же точке артериального сосуда различают максимальное (систолическое) давление, которое отмечается при систоле сердца, и минимальное (диастолическое) – при диастоле.

Величина артериального давления зависит от пола, возраста, породы, продуктивности и физиологического состояния животного.

У здорового человека максимальное давление составляет 110-125 мм рт. ст., минимальное – 70-80 мм рт. ст.

При некоторых заболеваниях кровяное давление значительно и стойко повышается (гипертония) или понижается (гипотония).

У человека артериальное давление измеряют аускультативным методом, у животных – осциллометрическим.

**Цель опыта.** Ознакомиться с методом определения кровяного давления у человека.

**Материалы и оборудование.** Прибор для определения кровяного давления, фонендоскоп.

**Подготовка и проведение опыта.** Измерение кровяного давления у человека проводится по методу Короткова. Этот метод основан на выслушивании звуковых эффектов, возникающих ниже места сдавливания плечевой артерии манжетой сфигмоманометра.

Сфигмоманометр состоит из полой резиновой манжеты и нагнетающего баллончика с винтовым клапаном. С его помощью создаётся небольшое давление в манжете. Найдя в локтевом сгибе (ближе к внутренней его стороне) плечевую артерию, устанавливают над ней фонендоскоп. Накачивая баллончиком воздух в манжету, создают в ней давление выше максимального, и пульс исчезает. Слегка открывая винтовой кран у баллончика и выпуская воздух из манжеты, одновременно надо прослушивать тоны в артерии.

Момент появления первых ясных звуков (сосудистых тонов) соответствует систолическому давлению в миллиметрах ртутного столба по манометру. При дальнейшем снижении давления в манометре и манжете тоны усиливаются, а затем исчезают, т.е. кровь начинает поступать в артерию беспрепятственно как

при систоле, так и при диастоле. Показания манометра в момент исчезновения тонов соответствуют величине диастолического (минимального) давления.

Пульсовое давление определяют как разницу между систолическим и диастолическим давлением.

У животных артериальное и венозное кровяное давление измеряется по величине колебаний (осцилляций) артериальной или венозной стенки с помощью флебоосциллографа или флебоосциллометра. У крупных животных артериальное давление определяется на хвостовой артерии, у мелких – на срединной артерии предплечья.

### **Контрольные вопросы**

1. Что такое кровяное давление?
2. Факторы, влияющие на его изменение.
3. Минимальное и максимальное кровяное давление; методы его определения.
4. Регуляция кровяного давления.

## **Работа 21. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВНЕШНИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАБОТЫ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

**Цель опыта.** Ознакомиться с характерными сердечными тонами и звуками при помощи аускультации и перкуссии, с методами регистрации и исследования сердечного толчка, а также с определением частоты и качества пульса в покое и после движения животного.

**Материалы и оборудование.** Животное или человек, фонендоскоп, стетофонендоскоп, секундомер, перкуссионный молоток, плессиметр, спирт, вата, полотенце, мыло.

### **Подготовка и проведение опыта**

**Аускультация тонов сердца.** Во время работы сердца возникают характерные звуки, или тоны. Первый тон совпадает с началом сокращения мышц сердца и закрытием створчатых клапанов. Это длинный и низкий по звучанию тон (б-ууу), он называется систолическим. Второй тон возникает в связи с расслаблением мышц (диастолой) и захлопыванием полулунных клапанов – диастолический тон. Он короткий и высокий (туп).

Крупное или мелкое животное фиксируют, при этом левую переднюю конечность отводят вперёд. К поверхности грудной клетки на уровне плечелопаточного сустава в 4-5-м межреберье прикладывают фонендоскоп или стетоскоп и проводят аускультацию (выслушивание) тонов сердца. Для более

чёткой слышимости тонов капсулу фонендоскопа передвигают в разные точки области расположения сердца и дифференцируют звуки. Исследования тонов проводят в покое животного, а затем после движения, обращая внимание на силу, ритм, частоту и посторонние шумы.

**Перкуссия** (выстукивание) производится с помощью перкуSSIONного молоточка и плессиметра или с помощью пальцев рук исследователя. Для проведения этой работы необходимо переднюю левую конечность животного отвести вперед и исследовать область сердца. Определяют проекцию абсолютной и относительной тупости. Абсолютная тупость возникает там, где сердце близко прилегает к грудной клетке и не прикрыто легкими, а относительная – в той зоне, где сердце прикрыто легкими. Граница абсолютной и относительной тупости отмечается мелом.

**Определение сердечного толчка.** Сердце в период систолы изменяется по форме и величине и соприкасается боковой поверхностью или верхушкой с грудной стенкой. Это сопровождается толчкообразным колебанием участка груди с левой стороны и возникновением сердечного толчка. У лошадей, крупного и мелкого рогатого скота он боковой, а у собак, кошек – верхушечный.

Крупное или мелкое животное фиксируют, левую переднюю конечность отводят вперед. Ладонь руки исследователь прикладывает к грудной стенке в пределах 4-5-го межреберных промежутков и определяет сердечный толчок. У некоторых животных его можно обнаружить по содроганию грудной стенки и движению волосяного покрова. Обращают внимание на частоту сердечного толчка, ритм, силу и место его возникновения. Результаты записывают и анализируют.

**Определение частоты и качества пульса** в покое и после движения животного. Пульс у крупного рогатого скота определяют на хвостовой и наружной лицевой артериях, у лошади – на наружной челюстной артерии и в сосудистой вырезке нижней челюсти, а у мелких животных – на сосудах бедра или предплечья. При этом учитывают количество пульсовых волн в течение 1 мин, а также определяют качество пульса: ритмичность, эластичность, длину, скорость волны и степень наполнения. Ритм пульса зависит от ритмичной работы сердца, эластичность – от свойств стенок сосудов, скорость волны – от продолжительности систолы сердца и эластичности сосудистой стенки. Степень наполнения связана с силой сокращения и систолическим объемом сердца, а также с эластичностью сосуда. Число пульсовых волн в минуту у лошадей – 32-42, у коров, свиней и овец – 60-80, у кроликов – 120-140, у собак – 70-80 и у кур – до 300.

### **Контрольные вопросы**

1. Какие методы используются для изучения внешних показателей работы сердца?
2. Чем обусловлены систолический и диастолический тоны сердца?
3. Что такое абсолютная и относительная области тупости сердца?
4. На каких артериях и каких участках тела определяют пульс у крупных и мелких животных?

## Библиографический список

### *Основной*

1. *Сравнительная физиология животных* / А.А. Иванов, О.А. Войнова, Д.А. Ксенофонтов, Е.П. Полякова. – СПб.: Лань, 2014. – 416 с.
2. *Физиология человека и животных* / под. ред. Ю.А. Даринского. – М.: Академия, 2011. – 448 с.

### *Дополнительный*

1. *Зайцев С.Ю.* Биохимия животных / С.Ю.Зайцев, Ю.В. Конопатов – СПб., 2004. – 384 с.
2. *Комаров Ф.И.* Биохимические исследования в клинике / Ф.И. Комаров, Б.Ф. Коровкин, В.В. Меньшиков. – М.: МЕДпресс-информ, 2001. – 254 с.
3. *Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: справ. изд.* / И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.
4. *Лея Ю.Я.* Оценка результатов клинических анализов крови и мочи. – М.: Медпресс, 2000. – 184 с.
5. *Медведев В.В.* Клиническая лабораторная диагностика / В.В. Медведев, Ю.З. Волчек. – М.: Гиппократ, 2007. – 386 с.
6. *Медведева М.А.* Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика / М.А. Медведева. – М.: Аквариум-Принт, 2009. – 416 с.: ил.
7. *Фундаментальная и клиническая физиология: учеб.* / под ред. А.Г. Камкина, А.А. Каменского. – М.: Академия, 2004. – 1073 с.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

### Гематологические показатели у различных видов животных

Показатель	Лошадь	Крупный рогатый скот	Свинья	Овца	Коза	Собака	Кошка
Плотность	1,046-1,059	1,052	1,046-1,054	1,051	1,051	1,051-1,062	1,052
pH	7,2-7,5	7,35-7,50	7,35-7,50	7,30-7,40	7,35-7,50	7,30-7,60	7,30-7,60
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	7,0-12,0	4,5-12,0	8,0-16,0	6,0-14,0	8,0-17,0	8,5-10,5	10,0-20,0
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	6,0-9,0	5,0-7,5	6,0-7,5	7,0-12,0	12,0-18,0	5,2-8,4	6,6-9,4
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	100-600	260-700	200-500	150-200	150-300	200-600	300-700
Гемоглобин, г%	8-14	9-12	9-11	7-11	10-15	11-17	10-14
Гемоглобин, г/л	100-160	90-120	90-120	80-120	100-170	120-180	80-150
Время свертывания крови, мин	15-30	8-10	10-15	4-8	4-8	4-8	1-2
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч	40-70	0,5-1,5	2-9	0,8	0,8	0-22	0-13



### Гематологические показатели у различных видов животных

Показатель	Кролик	Морская свинка	Крыса	Мышь	Хомяк	Верблюд	Северный олень
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	8,0-10,0	5,0-12,0	8,0-14,0	5,1-11,6	7,6	6,0-10,0	5,0-7,0
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	4,7-7,0	4,0-7,0	7,2-9,6	8,7-10,5	7,5	9,5-12,0	6,5-8,5
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	190	273-745	430-1000	10-400		100-600	200-700
Гемоглобин, г%	8,5-14,1	11,0-15,0	14,8	12,0-14,9	16,0	13,5-14,5	11,0-14,0
Гемоглобин, г/л	85-141	110-150	148	120-149	160	135-145	110-140
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч	3	2-9	1,5-2,1	2,0-2,3	5-7	1-4	1-31

### Гематологические показатели у птиц

Показатель	Курица	Утка	Гусь	Индейка	Попугай
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1,050-1,058	1,044-1,050	1,045-1,063	1,044-1,050	1,044-1,045
рН	7,40-7,44	7,40-7,44	7,40-7,44	7,40-7,44	7,40-7,44
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	20,0-40,0	10,0-12,5	9,0-13,5	7,0-11,0	4,0-4,5
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	3,0-4,0	3,5-4,5	2,5-3,5	7,0-11,0	3,5-4,5
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	32-100	70-120	60-70	19-100	20-350
Гемоглобин, г%	8,0-12,0	10,0-12,5	9,0-13,5	7,0-11,0	13,0-17,0
Гемоглобин, г/л	80-120	100-125	90-135	70-110	130-170
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч	0,5-2,0	0,7-2,5	0,7-2,5	0,7-2,0	-

### Показатели лейкограммы у различных видов животных и птиц

Вид животного	Базофилы	Эозинофилы	Нейтрофилы			Лимфоциты	Моноциты
			юные	палочкоядерные	сегментоядерные		
Лошадь	0-1	1-4	0-1	3-6	45-62	25-44	2-4
Крупный рогатый скот	0-2	3-20	0-1	2-5	20-35	40-75	2-7
Овца	0-1	4-12	0-2	3-6	35-45	40-50	2-5
Коза	0-1	3-12	0	1-5	29-38	47-64	1-2
Свинья	0-1	1-4	0-2	2-4	40-48	40-50	2-6
Кролик	0-2	1-3	0	5-9	33-39	43-62	1-3
Крыса	0	0-1	0		13-30	65-77	0-4
Мышь	0-2	0-4	0	1-5	13-30	60-78	2-5
Верблюд	0-1	4-12	0-2	1-6	40-52	29-45	1-5
Северный олень	0-1	3-7	0-1	2-5	55-66	21-37	1-4
Хомяк	1	1	0		30	75	3
Собака	0-1	2-9	0	1-6	40-71	21-40	1-5
Кошка	0-1	2-8	0-1	3-9	40-45	36-51	1-5
Морская свинка	0-2	4-12	0	1-5	30-45	36-54	3-5
Курица	1-3	6-10	0	-	24-30 псевдоэозинофилы	52-60	4-10
Утка	0-5	4-12	0	-	30-42 псевдоэозинофилы	40-56	2-7
Гусь	1-4	3-9	0	-	30-44 псевдоэозинофилы	52-60	2-6
Индейка	0-3	0-3	0	-	30-42 псевдоэозинофилы	49-60	4-8

### Гемадинамические показатели

Вид животного	Пульс, уд/мин	Артериальное давление, мм. рт. ст.	
		систолическое	диастолическое
Лошадь	24-42	170-172	120-123
Крупный рогатый скот	50-80	100-128	70-100
Свинья	60-90	139-155	90-100
Овца	70-80	145-151	100-114
Собака	70-120	140-155	90-100

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	4
<b>РАЗДЕЛ I. КРОВЬ</b>	5
Работа 1. Получение крови у животных	5
Работа 2. Получение сыворотки, плазмы, дефибринированной крови	6
Работа 3. Определение объемного соотношения форменных элементов крови и плазмы (показатель гематокрита)	7
Работа 4. Подсчет эритроцитов с помощью камеры Горяева	8
Работа 5. Фотоэлектроколориметрический метод подсчета эритроцитов	10
Работа 6. Подсчет тромбоцитов в крови	12
Работа 7. Подсчет лейкоцитов в крови	13
Работа 8. Подсчет эритроцитов и лейкоцитов с применением мерной пипетки	15
Работа 9. Определение лейкограммы	16
Работа 10. Гемоглобин крови и его определение	18
Работа 11. Вычисление цветного показателя крови	20
Работа 12. Определение скорости оседания эритроцитов (СОЭ)	21
Работа 13. Методы определения гемостаза	22
Работа 14. Гемолиз	25
Работа 15. Определение групп крови	26
Работа 16. Определение агглютинационного титра сыворотки	28
Работа 17. Определение резус-фактора	29
<b>РАЗДЕЛ II. КРОВООБРАЩЕНИЕ</b>	30
Работа 18. Проводящая система сердца. Опыт с лигатурами Станниуса (виртуальная физиология)	31
Работа 19. Биотоки сердца и их регистрация (электрокардиография)	32
Работа 20. Определение кровяного давления	35
Работа 21. Определение внешних показателей работы сердечно - сосудистой системы	36
<b>Библиографический список</b>	39
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ</b>	40

Составители:

Смирнов Павел Николаевич

Ефанова Нина Владимировна

Осина Людмила Михайловна

Баталова Светлана Владимировна

## **ФИЗИОЛОГИЯ КРОВИ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ**

Лабораторный практикум

Редактор Т.К. Коробкова

Подписано к печати 2022 г.

Формат 60x84 1/16. Тираж экз.

уч: изд. л, усл. печ. л.

Изд. №. Заказ №

Отпечатано в Издательском центре НГАУ «Золотой колос», 630039.

Новосибирск, ул. Добролюбова, 160