

В.П. Пішак, С.Г. Ярмольчук
ВИГОТОВЛЕННЯ РЕФЕРЕНТНИХ МАТЕРІАЛІВ З ДОПОМОГОЮ АНТИМІКРОБНОГО
БІОХІМІЧНОГО СТАБІЛІЗАТОРА

Кафедра медичної біології, генетики та гістології (зав. – чл.-кор. АПН України, проф. В.П.Пішак)
Буковинського державного медичного університету

Резюме. Встановлено, що фенол (карболова кислота) є антимікробним біохімічним стабілізатором глюкози, біологічних рідин та гомогенатів органів і тканин людини та піддослідних тварин, і в концентрації 50 ммоль/л стабілізує та зберігає цей показник у біологічних об'єктах незмінним (сталим) протягом 50 днів зберігання їх при кімнатній температурі. З

використанням фенолу нами розроблені референтні (еталонні, контрольні) матеріали для зовнішнього та внутрішнього контролю якості (точності) виконання лабораторіями біохімічних аналізів.

Ключові слова: глюкоза, фенол, референтні матеріали контролю якості.

Вступ. Світовий досвід лабораторної діагностики (яку тепер перейменували в клінічну лабораторну медицину, а Міжнародний інститут клінічної лабораторної діагностики в Міжнародний інститут лабораторної медицини) показує, що для досягнення точності біохімічних аналізів необхідно щоденно контролювати роботу лікаря-лаборанта за допомогою референтних матеріалів. Останні характеризуються точно встановленим вмістом досліджуваного аналіту, визначеному на спеціальних високоточних приладах у спеціальних референтних лабораторіях [3]. На Україні в даний час контрольні розчини не виробляються і вітчизняна медицина імпортує їх з Чехії (фірма „Ліонорм“) і Росії (фірма „Биоконт С“) [2]. Слід відзначити низьку якість цих імпортованих еталонних матеріалів. Так, в інструкції [2] вказано, що при визначенні глюкози в цих референтних матеріалах глюкозооксидазним методом похибка може коливатися в межах від 7,6 до 10,2 ммоль/л (85-115%). У зв'язку з цим перед вітчизняною медициною постало завдання розробити методику виготовлення власного референтного матеріалу, доступного, дешевого, простого у виготовленні з мінімальними коливаннями досліджуваних параметрів при їх паралельних визначеннях [4].

Мета дослідження. Знайти загальнодоступний стабілізатор, який би тривалий час стабілізував біологічні об'єкти та їх біохімічні показники і, використавши його, розробити референтні матеріали для контролю якості визначення глюкози в біологічних рідинах та гомогенатах органів і тканин людини та піддослідних тварин, а також у фракціях тканин. Оскільки біологічні об'єкти швидко розкладаються мікроорганізмами, то такий стабілізатор повинен мати

виражену антимікробну дію, тобто, він повинен бути антимікробним біохімічним стабілізатором (АМБС).

Матеріал і методи. Первинний скринінг АМБС проведено серед медичних антисептиків за їх здатністю запобігати росту гриба *Aspergillus niger* (*A. niger*) в 0,1 М розчині α -D, L – аланіну. Глюкозу визначали глюкозооксидазним способом за допомогою наборів реактивів „Филісит діагностика“ (Дніпропетровськ, Україна). Кров забирали в донорів Чернівецької обласної станції переливання крові, які були обстежені на відсутність у них СНІДу, сифілісу та гепатитів. У роботі використаний головний мозок шурів. Ліквор був постмортальним, його забирали в трунів людей, що померли раптовою смертю. Проби плаценти та навколоплідних вод забирали під час пологів у породіль 1-го Чернівецького міського пологового будинку. Для кількісного визначення глюкози використовували також сечу хворих на цукровий діабет Чернівецького обласного ендокринологічного диспансеру. Гомогенати готували з допомогою скляного гомогенізатора. Глюкозу визначали напівмікрометодом у режимі „біреагент“.

При виготовленні референтного матеріалу 50 г карболової кислоти розчиняли в 0,5 л дистильованої води, інтенсивно перемішували суміш, відстоювали її протягом 3 діб або центрифугували. При цьому суміш розділялася на дві фази, верхня, безбарвна була водою, насиченою фенолом. Концентрація карболової кислоти в ній дорівнювала 863 ммоль/л. З метою приготування референтного матеріалу біологічну рідину або гомогенат тканини інтенсивно перемішували на магнітній мішалці і з піпетки, носик якої був занурений у досліджуване середовище, повільно доливали 6,2 мл водного

розчину фенолу на 100 мл біологічного об'єкта. Розрахунки проводили за правилом пропорції, враховуючи розведення біологічних об'єктів стабілізатором, результати перемножували на 1,065. Одержані експериментальні дані обробляли статистично за комп'ютерною програмою Student Dv2.

Результати дослідження та їх обговорення. Проведені дослідження показали, що в нестабілізованих зразках цільної крові вміст глюкози зменшується, починаючи з моменту забору її. На 2-гу добу зміни були статистично вірогідними ($P < 0,001$), а через

20 днів досліджуваний показник становив усього 14% від вихідних величин. При проведенні дослідів із стандартними водними розчинами глюкози одержані результати протягом 50 днів зберігання проб при кімнатній температурі коливалися в межах 8,52-8,86 ммоль/л (98-102 %). Середня відносна похибка дослідів становила $\pm 3,00$ %.

Вміст глюкози в досліджених біологічних пробах (табл.) стабілізувався фенолом у динаміці зберігання проб при кімнатній температурі протягом 50 діб.

Таблиця

Вміст глюкози (у мілімолях на 1 л або на 1 кг сирової речовини) у біологічних рідинах, органах і тканинах людини та підслідних тварин (для всіх варіаційних рядів $n = 10$).

Об'єкти, що вивчалися	Статистичні показники	До стабілізації	Через 2 години після стабілізації	Дні після стабілізації							
				2	5	10	15	20	30	40	50
Цільна кров	M	4.25	4.25	4.18	4.30	4.15	4.11	4.34	4.09	4.14	4.31
	$\pm m$	0.11	0.15	0.12	0.14	0.10	0.10	0.11	0.13	0.11	0.07
	t	-	0.02	0.43	0.26	0.28	0.02	0.25	0.21	0.24	0.45
	P	-	>0.99	>0.95	>0.99	>0.95	>0.99	>0.95	>0.9	>95	>0.95
	%*	100	100	98	101	98	97	102	96	97	101
Сироватка крові	M	6.20	6.33	6.17	6.17	6.13	6.20	6.18	6.25	6.26	6.23
	$\pm m$	0.22	0.33	0.34	0.33	0.34	0.33	0.33	0.32	0.23	0.22
	t	-	0.34	0.08	0.08	0.16	0.01	0.06	0.13	0.20	0.10
	P	-	>0.95	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99
	%	100	102	100	100	99	100	100	101	101	100
Еритроцити	M	3.76	3.87	3.79	3.78	3.66	4.00	3.74	3.68	3.84	3.84
	$\pm m$	0.11	0.13	0.13	0.14	0.08	0.17	0.13	0.17	0.09	0.10
	t	-	0.27	0.22	0.16	0.21	1.24	0.09	0.43	0.56	0.25
	± 1	-	>0.95	>0.9	>0.95	>0.95	>0.05	>0.99	>0.95	>0.25	>0.99
	%	100	103	101	101	97	106	99	98	102	102
Головний мозок кролів	M	3.30	3.31	3.30	3.29	3.30	3.29	3.30	3.33	3.28	3.30
	$\pm m$	0.10	0.10	0.13	0.09	0.11	0.10	0.13	0.11	0.11	0.11
	t	-	0.12	0.06	0.02	0.01	0.04	0.08	0.21	0.16	0.01
	P	-	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99
	%	100	100	100	100	100	100	100	101	99	100
Ліквор	M	3.82	3.81	3.83	3.78	3.80	3.86	3.80	3.82	3.81	3.96
	$\pm m$	0.06	0.09	0.06	0.10	0.01	0.06	0.08	0.08	0.06	0.08
	t	-	0.06	0.08	0.29	0.17	0.45	0.17	0.02	0.12	0.13
	P	-	>0.99	>0.99	>0.95	>0.99	>0.95	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99
	%	100	100	100	99	99	101	99	100	100	102
Плацента людини	M	3.91	3.91	3.92	3.90	3.91	3.90	3.90	3.91	3.89	3.91
	$\pm m$	0.19	0.19	0.24	0.20	0.18	0.17	0.22	0.20	0.21	0.18
	t	-	0.03	0.06	0.01	0.02	0.04	0.02	0.04	0.07	0.08
	P	-	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99
	%	100	100	100	100	100	100	100	100	99	100
Навколоплідні води	M	1.48	1.54	1.44	1.48	1.48	1.46	1.52	1.51	1.49	1.54
	$\pm m$	0.06	0.08	0.06	0.07	0.05	0.08	0.08	0.07	0.08	0.06
	t	-	0.63	0.44	0.04	0.05	0.26	0.46	0.33	0.13	0.63
	P	-	>0.95	>0.95	>0.99	>0.99	>0.99	>0.95	>0.99	>99	>0.95
	%	100	104	97	100	100	99	103	102	101	104
Сеча хворих на цукровий діабет	M	235	231	234	238	236	228	235	233	235	239
	$\pm m$	9	9	10	11	9	8	9	9	9	9
	t	-	0.30	0.10	0.37	0.06	0.42	0.01	0.19	0.01	0.34
	P	-	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99	>0.95	>0.99	>0.99	>0.99	>0.99
	%	100	98	100	101	100	97	100	99	100	101

*— відсотки, вираховані з величин „M”.

Одержані результати свідчать, що стабілізовані фенолом біологічні рідини і гомогенати можуть використовуватися як референтні матеріали для контролю якості (точності) визначення глюкози в біологічних об'єктах, перерахованих вище.

Висновки

1. Карболова кислота у концентрації 50 ммоль/л стабілізує вміст глюкози в біологічних рідинах і гомогенатах органів і тканин протягом 50 днів зберігання їх при кімнатній температурі.
2. Біологічні об'єкти, стабілізовані фенолом, можуть служити референтними матеріалами для контролю якості (точності) визначення досліджуваного моносахариду в біологічних об'єктах.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є вивчення можливості стабілізації фенолом активності ферментів.

Література

1. Громашевська Л.Л. Про норми біохімічних показників: поняття, залежність від методів дослідження та інших факторів // Лаб. діагност. – 2001. – № 2. – С. 61-62.
2. Инструкция по применению набора „Сухие контрольные сыворотки, Серия № 11008/77. – № 8. – С. 2.
3. Назаренко Г.И., Полубенцева Е.И. Кишкун А.А. Современные технологии повышения эффективности использования возможностей лаборатории // Клини. лаб. диагност. – 2004. – № 1. – С. 52-55.
4. Проценко В.М. Зовнішня оцінка якості лабораторних досліджень (ЗОЯ). Досвід проведення регіональних циклів // Лаб. діагност. – 2000. – № 2. – С. 57-60.

PREPARATION OF REFERENCE MATERIALS BY MEANS OF ANTIMICROBIAL BIOCHEMICAL STABILIZERS

V.P. Pishak, S.H. Yarmolchuk

Abstract. It has been established that phenol (carbolic acid) is an antimicrobial biochemical stabilizer of glucose, biochemical fluids and homogenates of the organs and tissues of humans and experimental animals, stabilizing and preserving this parameter in a dose of 50 mmol/l in biological objects unchanged (permanent) during 50 days of their storage at room temperature. We have developed reference (control) materials by means of phenol for the purpose of internal and external monitoring of the quality (accuracy) of performing biochemical analyses by laboratories.

Key words: glucose, phenol, reference materials of quality monitoring.

Bukovinian State Medical University (Chesnivtsi)