

УДК: 616-074:543(048)

С.Г. Ярмольчук

ЗОВНІШНІЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ВИЗНАЧЕННЯ КРЕАТИНІНУ В НАВКОЛОПЛІДНИХ ВОДАХ ТА РЕФЕРЕНТНИЙ МАТЕРІАЛ ДЛЯ ЙОГО ЗДІЙСНЕННЯ

Кафедра медичної біології та генетики (науковий керівник – д.мед.н., проф. В.П. Пішак)
Буковинської державної медичної академії

S.G. Yarmolchuk

EXTERNAL CONTROL OF THE QUALITY OF CREATININE DETERMINATION IN AMNIOTIC FLUIDS AND THE MATERIAL FOR ITS IMPLEMENTATION

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Навколоплідні води інтенсивно перемішували на магнітній мішалці і доливали до них фенол, насичений водою, з розрахунку 0,7 мл на 100 мл біологічної рідини. Кінцева концентрація карболової кислоти дорівнювала 50 ммоль/л. Вміст креатиніну в даному референтному матеріалі не змінювався впродовж 50 діб зберігання при кімнатній температурі. Впродовж цього часу даний референтний матеріал можна використовувати для проведення внутрішнього та зовнішнього контролю якості визначення креатиніну біохімічними лабораторіями.

***Ключові слова:** навколоплідні води, антимікробний біохімічний стабілізатор, креатинін, референтний матеріал.*

Вступ. Кількісне визначення креатиніну в навколоплідних водах має важливе значення для оцінки перебігу вагітності, пологів та стану новонародженої дитини [2]. Тому дане дослідження проводиться як у практичному акушерстві, так і в науково-дослідній роботі [3,6]. Недоліком цих досліджень є недостатній контроль точності виконання їх персоналом клініко-діагностичних та наукових лабораторій [7], що зумовлено відсутністю контрольних (референтних) матеріалів.

Мета дослідження. Вишукати антимікробний біохімічний стабілізатор креатиніну навколоплідних вод і з його допомогою розробити методику виготовлення референтного матеріалу для контролю точності визначення креатиніну навколоплідних вод персоналом біохімічних лабораторій.

Антимікробним біохімічним стабілізатором є хімічна сполука, яка при додаванні її до досліджуваної біологічної рідини зберігає вміст креатиніну в ній незмінним впродовж тривалого часу [8].

Матеріал і методи. Скринінг антимікробного біохімічного стабілізатора провели серед 18 медичних антисептиків [5] за їх здатністю попереджати ріст гриба *Aspergills niger* на 0,1 М розчині α -D.L-аланіну[8]. Для досліджень

проводили забір під час пологів навколоплідні води. Вміст креатиніну в них визначали за методикою Н.Роррег та співавторів [7] зі змінами, які зазначені нижче. Експериментальні дані оброблені статистично [11].

Результати дослідження та їх обговорення. У нестабілізованих навколоплідних водах вміст креатиніну прогресивно зменшувався, починаючи з 3-го дня зберігання їх при кімнатній температурі. На 5-ту добу зміни були статистично вірогідними, а на 10-й день досліджуваний показник становив 18% від вихідних величин.

Серед вивчених медичних антисептиків відповідав вимогам, яким повинні відповідати ангімікробні біохімічні стабілізатори, фенол (карболова кислота) [9,10]. Дана сполука у концентрації 50 ммоль/л стабілізувала креатинін і зберігала вміст його у навколоплідних водах незмінним впродовж 50 діб зберігання їх при кімнатній температурі (табл.1). З використанням цього ангімікробного біохімічного стабілізатора нами розроблена методика виготовлення референтного матеріалу для контролю точності визначення креатиніну в навколоплідних водах.

Реактиви та обладнання:

1) фенол, насичений водою. До 20 г карболової кислоти кваліфікації “ЧДА” виробництва Уфимського заводу хімреактивів (Уфа, Российская Федерация) доливали 50 мл дистильованої води, закривали корком, інтенсивно струшували 10 хвилин і центрифугували або відстоювали впродовж трьох діб. При цьому суміш поділяли на дві фази, нижня з яких була фенолом, насиченим водою. Концентрація карболової кислоти у ній становила 7 629 ммоль/л [1].

2) насичений розчин пікринової кислоти.

3) 2,5 М розчин гідроксиду натрію.

4) 250 мкМ стандартний розчин креатиніну, приготовлений на 50 мМ водному розчині карболової кислоти, яка запобігає розкладанню його мікроорганізмами.

5) магнітна мішалка, центрифуга, фотоелектрокалориметр, пробірки, піпетки.

У зібраних зразках навколоплідних вод визначали вміст креатиніну і візуально та фотокалориметрично оцінювали прозорість одержаних проб. Для виготовлення референтних матеріалів відбирали тільки ті навколоплідні води, при визначенні креатиніну в яких одержували забарвлені, але абсолютно прозорі проби. Такі зразки біологічної рідини інтенсивно перемішували на магнітній

мішалші і повільно з піпетки, носик якої був занурений у навколоплідні води, доливали фенол, насичений водою, з розрахунку 0,7 мл на 100 мл досліджуваної біологічної рідини. В одержаних референтних матеріалах з максимальною точністю визначали концентрацію креатиніну, переливали їх у пляшечки і герметично закривали. Концентрація досліджуваної речовини у них не змінювався впродовж 50 діб зберігання при кімнатній температурі (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст креатиніну в референтних матеріалах навколоплідних вод у динаміці зберігання їх при кімнатній температурі

№ референтного матеріалу	До стабілізації	Вміст креатиніну в мікромолях на 1л							
		Дні після стабілізації							
		2	5	10	15	20	30	40	50
1	257	249	260	245	253	267	270	252	243
2	240	228	250	230	233	227	230	242	253
3	209	200	216	222	210	204	220	215	202
4	277	264	275	266	288	280	270	277	293
5	249	235	255	260	241	264	235	239	244
6	291	288	275	294	282	300	276	290	294
7	223	235	219	230	226	212	233	222	216
8	298	303	300	285	310	303	290	283	312
9	228	233	226	235	231	217	239	229	220
10	285	270	279	287	290	275	299	273	281
M	256	251	256	255	256	255	256	252	256
±1m	10	1,0	9	8	11	12	9	9	12
t	-	0,37	0,02	0,02	0,05	0,05	0,04	0,27	0,01
P	-	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5	>0,5
%*	100	98	100	100	100	100	100	98	100

Примітка. * – Відсотки вираховані з величин "M"

Середня відносна похибка кількісного визначення креатиніну у виготовлених референтних матеріалах на 50-й день зберігання їх при кімнатній температурі дорівнювала $\pm 1,72\%$ (табл.2).

З метою контролю точності визначення досліджуваного показника у центрифужну пробірку доливали 3 мл пікринової кислоти, 3 мл референтного матеріалу, перемішували, поміщали на 5 хв у водяну баню при 100°C , центрифугували 5 хв зі швидкістю 3 000 обертів за хвилину, переносили 5 мл центрифугату в нову центрифужну пробірку, доливали 0,4 мл розчину гідроксиду натрію, перемішували, повторно центрифугували 5 хв з тією ж швидкістю,

переносили верхні 4 мл надосадової рідини в кювету з довжиною оптичного шляху 10 мм і колориметрували проти контролю при довжині світлової хвилі 540 нм. Вміст креатиніну вираховували за правилом пропорцій, користуючись формулою: $C_{дос} = C_{ст} \times (A_{дос} / A_{ст}) \times 100,7$, в якій $C_{дос}$ і $C_{ст}$ – концентрації креатиніну у дослідній та стандартній пробах, $A_{дос}$ і $A_{ст}$ – абсорбція (екстинкції) цих же проб. Контрольну і стандартну проби готували як і дослідну, замінивши 3 мл навколоплідних вод таким же об'ємом дистильованої води або стандартного розчину креатиніну.

Таблиця 2

Середня відносна похибка кількісного визначення креатиніну в референтному матеріалі стабілізованому фенолом у концентрації 50 ммоль/л*

№ проби	Абсорбція	Вміст креатиніну в мікромолях на 1 л	Відхилення від середнього арифметичного	Середня відносна похибка
1	0,312**	286	5	±1,72%
2	0,315	289	2	
3	0,310	284	7	
4	0,325	298	7	
5	0,320	293	2	
6	і 0,325	298	7	
Середнє арифметичне		291	5	

Примітка. * – Проби зберігали 50 діб при кімнатній температурі.

** – Абсорбція стандартних проб з концентрацією креатиніну 250 мкмоль/л в середньому дорівнювала 0,273.

Механізм стабілізуючої дії фенолу на навколоплідні води та вміст креатиніну в них пов'язаний з його здатністю взаємодіяти з ліпідними компонентами цитоплазми і клітинних мембран мікроорганізмів [5,10]. При цьому порушується обмін речовин та біологічні функції мікробних органел [4]. Дані взаємодії та порушення зумовлюють антимікробну дію карболової кислоти [5,10], яка обумовлює деконтамінацію референтних матеріалів і запобігає розкладання мікробами-контамінантами навколоплідних вод та креатиніну, що міститься в них.

Висновок. Навколоплідні води, стабілізовані фенолом у концентрації 50 ммоль/л. не змінюють концентрації креатиніну впродовж 50 діб і є референтним матеріалом для контролю точності визначення даної речовини біохімічними лабораторіями.

Література. 1. *Гороновский И.Т., Назаренко Ю.П., Некряч Е.Ф.* Краткий справочник по химии.- К.: Наук. Думка, 1987.- С. 688. 2. *Евсюкова Й.Й., Кошелева Н.Г.* Сахарный диабет: беременных и новорожденных.- СПб.: Спецлитература, 1996.- 270 с. 3. *Жученко П.Г., Тарасюк В.І.* Акушерство.- К.: Здоров'я, 1995.- 479 с. 4. *Красильников А.П.* Справочник по антисептико.- Минск: Выш. шк., 1995.- 267с. 5. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства. В 2 т. Т. 2. Изд. 13-е, новое.- Харьков: Торсинг, 1997.- С. 401-434. 6. *Медведев В. В., Волчек Ю.З.* Клиническая лабораторная диагностика: Справочник для врачей / Под ред. В.А. Яковлева.- СПб.: Гиппократ, 1995.- 208 с. 7. *Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П.* Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова.- М.: Медицина, 1987.- С. 219-221. 8. *Циркадна мотивація дестабілізації ішемічної хвороби.* Пішак В.П., Ярмольчук Г.М. Первинний скринінг антифункціональних біохімічних стабілізаторів // Мікробіол. журн.- 1997.-Т. 59, №5.- С. 41-46. 9. *Пішак В.П., Ярмольчук С.Г.* Консервация биологических жидкостей фенолом // Буковин. мед. акад.- Черновцы- 1997.- 6 с.- Библиогр.: 5 назв.- Рус.- Ден. в ВИНТИ РАН 07.10.97, № 2 984-В97. 10. *Тринус Ф.П.* Фармакотерапевтический справочник.- 7-е изд., испр.- К.: Здоров'я, 1993.- С. 439-440. 11. *Францевич Л.И.* Обработка результатов биологических экспериментов на микро-ЭВМ "Электроника БЗ-21" (Программы и программирование).- К.: Наук. Думка, 1997.- 91 с.