

ОЦЕНКА АНАЛИТИЧЕСКОЙ НАДЕЖНОСТИ И ЗНАЧИМОСТИ МОДИФИКАЦИИ АТОМНО-АБСОРБЦИОННОГО МЕТОДА ПРИ ДИАГНОСТИКЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОЗОВ

Мацинович А.А.

УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»

В литературе в настоящее время для обозначения заболеваний, вызванных дефицитом, избытком или дисбалансом микроэлементов все более широко используется объединяющее название микроэлементозы. Введение этого термина представляется многим весьма логичным, так как, несмотря на обширный круг, внешне разнообразных патологических процессов, возникающих при данных заболеваниях, – они имеют принципиально единую химическую этиологию. Положительным, с врачебной точки зрения, является то, что внимание исследователя концентрируется с самого начала на причине явления и позволяет таким образом глубже понять их закономерные следствия, которыми в данном случае являются многие болезни, синдромы и патологические признаки. По современным представлениям микроэлементозы животных вызываются не только алиментарным недостатком или избытком микроэлементов в кормах. Массовое распространение данных болезней и, прежде всего, гипомикроэлементозов может быть обусловлено вторичными причинами, связанными с нарушением соотношения между микро- и макроэлементами; отсутствием детализации норм кормления с учетом продуктивности, физиологического состояния и технологических особенностей эксплуатации; нарушением обмена микроэлементов при заболеваниях внутренних органов, инфекционных и инвазионных болезнях и др. [1, 2, 3, 4].

Нарушения обмена микроэлементов являются одной из причин снижающих продуктивность животных и обуславливающих возникновение ряда заболеваний, часто принимающих массовый характер [3, 5, 6, 7].

Микроэлементозы, развивающиеся у животных, часто длительное время остаются клинически не распознаваемыми. Лечение же данных болезней в стадию выраженных клинических признаков практически не возможно. Поэтому ранней диагностике микроэлементозов в литературе уделяется большое значение [1, 2, 3, 4, 7].

Диагностические мероприятия при микроэлементозах животных и в настоящее время остаются в значительной степени недостаточными, не позволяющими выявлять патологический процесс на раннем этапе развития. Лабораторные исследования в устоявшихся на производстве диагностических схемах практически не используются.

Основой лабораторной диагностики микроэлементозов являются так называемые «прямые» тесты, т.е. определение содержания этих металлов в биосредах животных, преимущественно в крови. Используемые методы диагностики [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14] достаточно трудоемки из-за необходимости предварительной многочасовой пробоподготовки и недостаточно чувствительны и селективны. В ветеринарной практике Республики Беларусь использу-

ются преимущественно фотометрические методы, требующие «сухой» минерализации и использования значительных количеств тканей (крови – до 50 мл; печени – до 10 г) [8, 13, 14]. Стандартизованных методик количественного определения таких элементов, как Cd, Pb и Ni, не предложено вообще.

Наиболее перспективными в настоящее время в медицине и ветеринарии считаются методы пламенной (атомно-эмиссионной) и атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС), отличающиеся высокой чувствительностью и возможностью определения очень низких концентраций микроэлементов в биосубстратах. В последнее время все более широкое распространение в научных исследованиях получают и считаются весьма эффективными методы определения элементов в органах, биосредах человека и животных с помощью атомной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) и масс-спектропии (ИСП-МС), нейтронного активационного анализа, которые позволяют в одной пробе одновременно определить 20 и более элементов [15, 16, 17, 18].

Целью настоящего исследования явилась разработка более простых и воспроизводимых методов анализа тяжелых металлов в крови животных для диагностики микроэлементозов на основе атомной абсорбции как наиболее доступных и отличающихся удовлетворительной воспроизводимостью метода для целей ветеринарной медицины.

Материалы и методы исследования. Оценке подвергался атомно-абсорбционный метод с использованием Зеермановской коррекции и электротермической атомизации, воспроизводимые на атомно-абсорбционном спектрофотометре «МГА-915» (Россия). Принцип действия анализатора МГА-915 основан на использовании метода Зеермановской модуляционной поляризационной спектроскопии с высокочастотной модуляцией (ЗМПСВМ), который является одним из вариантов высокоселективного атомно-абсорбционного анализа. Электротермическая атомизация происходит в стандартной графитовой кювете Массмана, помещенной в поперечное постоянное магнитное поле напряженностью 7,5 кЭ. В атомизаторе резонансное излучение с горизонтальной поляризацией (параллельно магнитному полю) поглощается определяемыми атомами и мешающими молекулами и аэрозолями, а с вертикальной (перпендикулярно магнитному полю) – только мешающими молекулами. Что позволяет проводить определение микроэлементов в пробах с содержанием органических веществ.

Оценка эффективности апробируемого метода проводилась согласно методическим указаниям [19, 20]. Определения были проведены в 750 пробах крови с разными уровнями содержания соответ-

вующих микроэлементов в ней. В качестве стандартного материала использовалась контрольная сыворотка производства Comrey (Польша), аттестованная по содержанию цинка, меди и железа атомно-абсорбционным методом и производства ESA. INC., (США) – на свинец и кадмий. Правильность определения кобальта контролировалась методом добавки [19, 20]. Лабораторные исследования проводились в условиях ЦНИЛ УО ВГАВМ (аттестат аккредитации № ВУ 02150/0106031). Озольнение проб проводили по методам, приведенным для фо-

тометрических методик и представленных в сборнике методов, рекомендованных Главным управлением ветеринарии Республики Беларусь [14]. Пробоподготовка для разрабатываемой методики заключалась в прямом разведении цельной крови или сыворотки крови в степени от 1:5 до 1:50 в зависимости от определяемого микроэлемента бидистиллированной водой [21]. О пригодности метода для определения микроэлементов в крови животных были рассчитаны по формуле Тонкса предельно допустимые погрешности (таблица 1).

Таблица 1 - Предельно допустимая погрешность измерения метода при определении концентрации микроэлементов (%)

Элемент	КРС	Свиньи	Овцы	Куры	Лошади
Mn	12,5	11,8	12,5	10,3	12,5
Cu	5,9	6,0	6,3	6,5	5,8
Zn	12,9	8,9	10,2	10,9	12,2
Pb			25,0		
Co	12,3	12,0	15,0	10,2	10,0
Fe	5,0	5,0	5,9	7,3	5,3
Cd			25,0		

Результаты исследований. Было установлено, что метод ААС с использованием Зеермановской коррекции и электротермической атомизации, воспроизводимый на атомно-абсорбционном спектрофотометре «МГА-915» (Россия) по чувствительно-

сти удовлетворяет необходимым потребностям и позволяет проводить определение микроэлементов в биологических субстратах без предварительного озольнения (таблица 2).

Таблица 2 - Диапазон измеряемых концентраций в пробах биологического материала

Определяемый элемент	Линейный концентрационный диапазон обнаружения в объеме 20 мкл, мкг/дм ³	Линейный диапазон обнаружения в образце, вносимом в атомизатор, пг
Mn	0,15 – 50	3,0 – 1000
Cu	0,2 – 100	4,0 – 2000
Zn	0,00005 – 50 2,5 - 7500	0,001 – 1000* 50 – 150000**
Pb	0,25 – 50	5,0 – 1000
Co	0,3 – 75	6,0 – 1500
Fe	0,2 – 50	4,0 – 1000
Cd	0,0075 – 10	0,15 – 200

Примечание: * - при измерении на 213,9 нм; ** - при измерении на 307,0.

Таблица 3 - Сравнительная воспроизводимость метода коэффициент вариации (CV%) определения микроэлементов в контрольном материале

Определяемый Элемент	Настоящая методика	ААС метод с озольнением	Фотометрические методы по [8]
Mn	6,5	10,2	15,6
Cu	4,9	8,5	9,3
Zn	5,2	7,9	10,4
Pb	12,3	20,8	-
Co	7,8	10,8	16,5
Fe	10,3	14,9	20,2
Cd	16,1	23,6	-

Как видно из таблицы 2, широта определяемого концентрационного интервала и чувствительность позволяют использовать этот метод для определения микроэлементов в любом биологическом материале, в том числе и крови, для диагностики как гипомикроэлементозов, так и субхронических гипер-

микроэлементозов.

По своей общей суммарной неопределенности (коэффициент вариации (CV%) данный метод также можно использовать в диагностической практике, так как коэффициент вариации, получаемый в условиях нашей лаборатории, не превышал значе-

ний максимально допустимой погрешности определения (таблица 3).

Как видно из данной таблицы метод, ААС с использованием Зеермановской коррекции и электротермической атомизации, воспроизводимый на атомно-абсорбционном спектрофотометре «МГА-915» (Россия), превосходит фотометрические методы и традиционный ААС метод определения микроэлементов с озолением по воспроизводимости, а следовательно, и точности. Повышение точности определения, по нашему мнению, осуществляется в том числе и за счет облегчения пробоподготовки.

«Прямое» разведение крови бидистиллированной водой позволяет значительно увеличить воспроизводимость методики атомно-абсорбционного определения микроэлементов и повысить производительность исследования. Так в течение рабочего дня один исследователь может определить 8 разных микроэлементов в 30 пробах жидкого биологического материала с их полной пробоподготовкой.

Так же было проведено изучение корреляции между традиционно используемыми методиками и разрабатываемым методом (таблица 4).

Таблица 4 – Корреляция разработанного метода с традиционно используемыми методиками (значение коэффициента r)

Определяемый элемент	ААС метод с озолением	Фотометрические методы по [1]
Mn	0,906	0,877
Cu	0,897	0,906
Zn	0,929	0,923
Pb	0,837	-
Co	0,979	0,915
Fe	0,924	0,937
Cd	0,906	-

Из таблицы видно, что разработанный метод позволяет выявлять все тенденции при исследовании биологического материала, что и традиционно используемые методы.

Заключение. 1. Метод ААС с использованием Зеермановской коррекции и электрохимической атомизации обладает высокой чувствительностью и селективностью, превышает принятые в настоящее время методы определения микроэлементов. 2. Показатели аналитической надежности и значимости метода ААС с использованием Зеермановской коррекции и электрохимической атомизации позволяют использовать его для определения микроэлементов в любом биологическом материале, в том числе и крови, для диагностики как гипомикроэлементозов, так и субхронических гипермикроэлементозов.

Литературы: 1. Федоров, А.И. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных / А.И. Федоров [и др.]. - Мн.: Ураджай, 1986. - 95 с. 2. Авцын, А.П. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын, [и др.]. - М.: Медицина, 1991. - 496 с. 3. Кондрахин, И.П. Болезни обмена веществ и эндокринных органов / И.П. Кондрахин // Внутренние незаразные болезни животных / Г.Г. Щербаков и [др.]; под ред. Г.Г. Щербакова, А.В. Коробова. - СПб.: Издательство «Лань», 2002. - С. 447-555. 4. Дмитроченко, А.П. Кормление сельскохозяйственных животных / А.П. Дмитроченко, М.П. Пшеничный. - М.: Колос, 1975. - 285 с. 5. Антонюк, В.С. Животноводство - главный источник экспортной продукции АПК / В.С. Антонюк // Конкурентноспособное производство продукции животноводства в Республике Беларусь: материалы Междунар. науч.-произв. конф., Жодино 17 мая 1998 г. / НАН РБ, БелНИИЖ; редкол.: П.И. Шейко [и др.]. - Жодино, 1998. - С. 3-5. 6. Антонюк, В.С. Животноводство: пути повышения эффективности / В.С. Антонюк // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины: матер. III между. науч.-практ. конф., Витебск 5 - 7 ноября 1999 г / УО «ВГАВМ»; редкол.: А.И. Ятусевич [и др.]. - Витебск, 1999. - Т. 35, ч. - С. 123 - 165. 7. Георгиевский, В.И. Минеральное питание животных / Георгиевский В.И., Анненков Б.Н., Самохин В. - М.: Колос, 1979. - С. 366-403. 8. Антонов, Б.И. Лабораторные

исследования в ветеринарии: справочник / Б.И. Антонов, Т.Ф. Яковлева, В.И. Дерябина; под ред. Б.И. Антонова - М.: Агропромиздат, 1991. - 326 с. 9. Определение содержания цинка, никеля, меди и хрома в крови методом атомно-абсорбции: МУК 4.1777 - 1999. - Введ. 01.10.99. - Минск: МЗ РБ, 1999 - 38 с. 10. Методы исследования в профпатологии: методические рекомендации / МЗ СССР; сост. А.Н. Савицкий - М., 1988. - 125 с. 11. Лабораторная диагностика острых отравлений солями тяжелых металлов методом потенциометрического инверсионного анализа: методические рекомендации № 96 /215 / МЗ РФ; сост. М.Н. Плахотина - М., 1996. - 28 с. 12. Методические указания по спектральным методам определения микроэлементов в объектах окружающей среды и биоматериалах при гигиенических исследованиях / МЗ СССР; сост. А.Н. Савицкий - М., 1987. - 123 с. 13. Кондрахин, И.П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И.П. Кондрахин, [и др.]. - М.: Агропромиздат, 1985. - 287 с. 14. Перечень государственных стандартов, ТУ и других НТД, применяемых в деятельности лабораторий ветеринарного контроля предприятий Республики Беларусь: нормативное издание утв. ГУВ МСХиП 1 дек. 1998 г.: в 3 т. - Минск: ГУВ, 1998. - Т. 2. - 125 с. 15. Тиц Н.У. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Н.У. Тиц [и др.]; под ред. проф. Н. У. Тица; перевод с английского под ред. проф. В.В. Меньшикова. - М.: Издательство «Лабинформ», 1997. - 960 с. 16. Bland, J. Hair tissue mineral analysis / J. Bland. - N.Y.: Thorsosns Publ. Inc., 1984. - 77 p. 17. Medical diagnostics based on the results of AES-ICP analysis of human hair / S. Starshinova [at al.] // Abstr. Pittcon, 3-8 March, 1996. - Chicago, 1996. - P. 241. 18. Determination of trace elements in tissue of human uterine cancer by instrumental neutron activation analysis / Zhong H. [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. - 1999. - Vol. 71-72. - P.569-574. 19. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: Руководство ЕВРАХИМ/СИТАХ / Пер. с англ. Р.Л. Кадиса [и др.]; под общей ред. Л.А. Кононелко.; 2-е издан. - СПб.: ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002 - 149 с. 20. Контроль качества лабораторных исследований: приложение к приказу МЗ РБ № 154 от 24.06.97 г.; под ред. д.м.н., проф. И.В. Василевского. - Минск, 1997. - 66 с. 21. Мацинович, А.А. Особенности пробоподготовки крови при определении в ней микроэлементов атомноабсорбционным методом без озоления / А.А. Мацинович // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Мат-лы Сиб. Междунар. вет. конгресса / Новосибирский аграрный университет. - Новосибирск, 2005. - 317-318 с.