

© Чуракова Ю.А., Антонова А.А., 2019

УДК 616.316–008.8–076–71

DOI: 10.17238/PmJ1609-1175.2019.1.81–83

Применение лабораторного портативного устройства Crystallina для стандартизации преаналитического этапа кристаллографии ротовой жидкости

Ю.А. Чуракова, А.А. Антонова

Дальневосточный государственный медицинский университет (680000, г. Хабаровск, ул. Карла Маркса, 35)

Цель исследования: определить эффективность функционального лабораторного устройства Crystallina для стандартизации преаналитического этапа кристаллографии ротовой жидкости. **Материал и методы.** Проведен забор ротовой жидкости у 96 детей 9–11 лет. В контрольной группе (48 человек) образцы слюны исследованы по стандартной методике, в опытной группе (48 человек) – с помощью устройства Crystallina. **Результаты исследования.** Частота выявления стандартного качественного образца капли и фации слюны в опытной группе составила 96%, в контрольной – 45%. **Обсуждение полученных данных.** Выравнивание горизонтальной поверхности посредством дополнительного оснащения в устройстве Crystallina позволяет получить каплю смешанной слюны, соответствующую стандартным параметрам. Использование изолирующей крышки предотвращает попадание инородных частиц в каплю, что позволяет избежать артефактов. Полученные данные свидетельствуют о высокой эффективности портативного лабораторного устройства Crystallina для стандартизации преаналитического этапа кристаллографии любой биологической жидкости.

Ключевые слова: устройство, ротовая жидкость, капля, метод клиновидной дегидратации

Биологические системы организма обладают универсальной способностью сохранять и передавать информацию в виде структур и функций [1]. Капля – объемная структура любой жидкости, чей объем определяется главным образом соотношением удельного веса жидкости и силы ее поверхностного натяжения [7]. Испарение жидкости происходит равномерно со всей поверхности капли. В связи с тем, что полусфера имеет разную толщину в центре и по периферии, в капле при испарении воды концентрация растворенных веществ изменяется неравномерно: в периферических отделах она возрастает быстрее, чем в центральной части. В результате периферическая аморфная зона представлена структурами органического происхождения, а центральная кристаллическая – структурами солей [2, 3].

Изучение физико-химических и метаболических показателей слюны становится все более актуальным. В настоящее время приобретает большую значимость метод клиновидной дегидратации слюны, который был открыт Е.Г. Рапис. Российские ученые В.Н. Шабалин и С.Н. Шатохина выявили основные закономерности формирования структур твердой фазы биожидкостей, классифицировали и описали их системные и локальные морфологические особенности [4, 5, 8].

Реализация метода проста: при высыхании капли образуется сухая пленка или фация, представляющая собой структурный макропортрет, в котором видны различающиеся по форме, направленности, занимаемой площади и другим параметрам фигуры. Нами выявлены недостатки метода клиновидной дегидратации В.Н. Шабалина и С.Н. Шатохиной [8]: 1) обработка жидкости проводится в термостате, что ведет к быстрому высыханию капли, а это искажает фигуры фации слюны; 2) в термостате отсутствует горизонтальная плоскость

с возможностью выравнивания; 3) имеется вероятность попадания в высушиваемую каплю инородных частиц из-за отсутствия защиты. Поверхность, на которой проводится высушивание биологической жидкости, должна соответствовать определенным стандартам, а именно: располагаться в идеально ровной плоскости без смещения по осям относительно горизонта. При изменении же уровня поверхности, на которой высыхает биологическая жидкость, а также при влиянии внешних воздушных масс, центр капли смещается, и происходит ложная кристаллизация. Вследствие этого ухудшается эффективность диагностики, и повышается процент ошибок при оценке результата.

Метод клиновидной дегидратации используется при исследовании ротовой жидкости которая содержит 98–99% воды, около 0,5% неорганических солей и до 1% органических веществ – протеинов и других компонентов [6, 8]. Для стандартизации преаналитического этапа кристаллизации и подготовки образца слюны нами предложено портативное лабораторное устройство Crystallina, изготовленное из акрилового стекла (рис. 1). Внутри столешницы устройства расположены два уровня по осям X и Y, под прямым углом друг относительно друга. С их помощью можно оценить выравнивание столешницы относительно горизонта (рис. 2).

Для выравнивания горизонтальной поверхности устройства Crystallina в дно столешницы вмонтированы четыре металлические ножки – болты с резьбой. Посредством вращения гайки по резьбе изменяется наклон поверхности столешницы, контролируемый уровнями. После выравнивания столешницы относительно горизонта на нее кладется предметное стекло и на него микропипеткой «Ленпипет» наносится капля смешанной слюны объемом 0,02 мл. Высушивание капли осуществляется в условиях помещения при комнатной температуре (18–25°C) с обязательной изоляцией

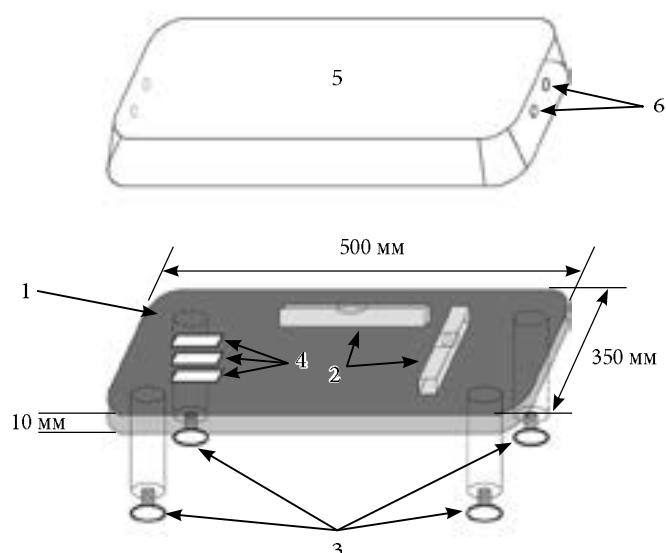


Рис. 1. Портативное лабораторное устройство Crystallina:

1 – столешница, 2 – уровни по осям X и Y, 3 – регулируемые по высоте ножки, 4 – предметные стекла, 5 – изолирующая крышка, 6 – отверстия изолирующей крышки.

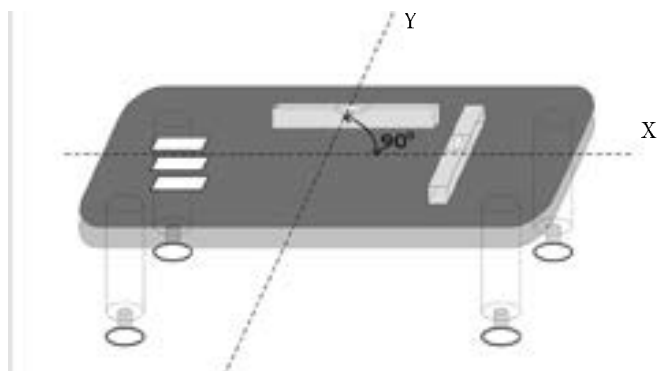


Рис. 2. Выставление уровня по осям X и Y:

пузырек внутри должен располагаться в центральном положении.

образца с помощью крышки. На боковых поверхностях с каждой стороны крышки находится по два отверстия для поддержания постоянства температуры, влажности и устранения парникового эффекта. С помощью программы Photoshop CS5 нами был разработан шаблон стандартного качественного образца слюны с ровной окружностью и без смещения центра кристаллографии, с точными параметрами и размерами фации (высота – $1 \pm 0,47$ мм, диаметр – $4 \pm 0,38$ мм). Соотношение зон фации: центральная – 65–70%, периферическая – 25–30%. Фотография фации слюны помещается в программу, затем сверху накладывается эталонный шаблон центральной и периферической окружностей, выявляющий параметр смещения зон капли (рис. 3).

Цель настоящего исследования: определить эффективность функционального лабораторного устройства Crystallina для стандартизации преаналитического этапа кристаллографии ротовой жидкости.

Материал и методы

В стоматологической клинике ООО «Зубная Фея» (Хабаровск) обследованы 96 детей в возрасте от 9–11 лет, проходившие стоматологическое лечение. Помимо



Рис. 3. Фотография фации слюны, спроектированная в программе Photoshop CS5.

санации полости рта всем детям предлагалось провести забор ротовой жидкости для исследования. Перед стоматологическим лечением и дополнительным обследованием родители подписывали информированное согласие в соответствии с ФЗ № 323 (ст. 20). Дети были условно разделены на две группы: контрольная – 48 человек, опытная – 48 человек.

Забор образцов смешанной слюны в контрольной группе, осуществлялся с помощью стерильной пробирки в количестве 2 мл. После этого проводилось получение фации слюны из капли ротовой жидкости путем нанесения ее на предметное стекло с высушиванием и последующим получением фигур фации слюны из капли 0,02 мл на неоткалиброванной поверхности по методике, предложенной В.Н. Шабалиным и С.Н. Шапкиной (2001). Забор образцов смешанной слюны в опытной группе также осуществлялся с помощью стерильной пробирки в количестве 2 мл. После этого проводилось получение фации слюны из капли 0,02 мл ротовой жидкости методом нанесения на предметное стекло и высушивания с применением портативного лабораторного устройства Crystallina.

Микроскопия фации ротовой жидкости у детей обеих групп выполнялась с помощью стереомикроскопа МСБ-9 с бинокулярной лупой и объективом $f=90$ мм. Затем с помощью зеркальной фотокамеры Nikon D5000 полученная картина фиксировалась. Проводилось сравнение фаций ротовой жидкости контрольной и опытной групп со стандартным качественным образцом фации слюны в программе Photoshop CS5. Обработка полученных данных выполнена с помощью вычисления средней арифметической (M), ее стандартной ошибки (s) и оценки достоверности разности средних величин t -критерием Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования

Частота выявления стандартного качественного образца капли и фации слюны в опытной группе составила $96 \pm 2,6\%$. Получены образцы были высотой $1 \pm 0,47$ мм, диаметром $4 \pm 0,38$ мм, ровной округлой формы без искажения, без смещения центра кристаллизации и без нарушения текстурного рисунка. Для центральной зоны характерен четкий рисунок с образованием

крупных удлинённых кристаллопризматических структур, идущих от центра капли, сросшихся между собой и имевших древовидную и папоротникообразную форму. Соотношение зон фации: центральная – 65–70%, периферическая – 25–30%.

В контрольной группе доля качественных образцов капли и фации ротовой жидкости составила $45 \pm 1,4\%$. Были получены нестандартные образцы слюны высотой 1–3 мм, диаметром 4–6 мм, деформированной формы с неровным краем. Соотношение зон: центральная – 45–80%, периферическая – 20–65%. Рисунок центральной зоны часто оказывался искаженным и нечитабельным при микроскопии. В опытной группе частота возникновения неудовлетворительных образцов фации составляла $4 \pm 0,9\%$, в контрольной – $55 \pm 1,6\%$.

Обсуждение полученных данных

Результаты исследования свидетельствуют о высокой эффективности портативного лабораторного устройства Crystallina для стандартизации преаналитического этапа кристаллографии любой биологической жидкости. Биологические жидкости организма в процессе дегидратации проявляют свойства единой сложной системы, которая имеет свои физико-химические свойства и способна к самоорганизации [3]. Функциональное лабораторное устройство, предлагаемое нами, доступно, не требует дополнительного технического переоснащения лаборатории и гарантирует повышение эффективности исследования биологических жидкостей. Анализ результатов работы показал, что частота формирования стандартного качественного образца капли и фации слюны у детей с применением устройства Crystallina составляет около 96%. Выравнивание горизонтальной поверхности посредством дополнительного оснащения позволяет получить каплю, соответствующую параметрам стандартизованного шаблона фации. Использование изолирующей крышки во время высыхания капли смешанной слюны предотвращает попадание в материал инородных частиц, что позволяет избежать артефактов. Высокая эффективность портативного лабораторного устройства Crystallina для исследования стандартизации преаналитического этапа кристаллографии любой биологической жидкости подтверждается клинико-статистическим анализом.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература / References

1. Барер Г.М., Денисов А.Б., Ревокатова И.П. [и др.]. Кристаллизация ротовой жидкости. Состав и частота поверхности подложки // Бюл. эксп. биол. и мед. 2007. № 12. С. 693–696. Barer G.M., Denisov A.B., Revoatova I.P. [et al.]. Crystallization of rotations. Constitution and Chance Sprinkles pads // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2007. No. 12. P. 693–696.
2. Блюмин Р.Б., Наумова А.А. Технологии безконтактной диагностики // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. 15, № 4. С. 146–149.

3. Воробьев А.В., Воробьева В.А., Киселева Т.Л. Кристаллография в гомеопатии. Итоги и перспективы развития традиционной медицины в России // Научная юбилейная конференция, посвященная 25-летию со дня открытия в Москве ЦНИИР: сб. материалов. М., 2002. С.230–231.
4. Король Д.М., Козак Р.В., Коробейникова Ю.Л. Фрактальность кристаллографических изображений нативной ротовой жидкости // Приволжский научный вестник. 2014. № 12–1. С. 136–139. Korol D.M., Kozak R.V., Korobeinikova J.L. Fractality of crystallographic images of the native oral fluid // Privolzhsky Scientific Bulletin. 2014. No. 12–1. P. 136–139.
5. Мулик А.Б., Постнова М.В., Мулик Ю.А. Уровень общей неспецифической реактивности организма человека. Волгоград: Волгогр. науч. изд-во, 2009. 224 с. Mulik A.B., Postnova M.V., Mulik J.A. The level of general non-specific reactivity of the human body. Volgograd: Volgograd. sci. publishing house, 2009. 224 p.
6. Тарасевич Ю.Ю., Православнова Д.М. Качественный анализ закономерностей высыхания капли многокомпонентного раствора на твердой подложке // Журнал технической физики. 2007. Т. 77, № 2. С. 17–21. Tarasevich J.J., Pravoslavnova D.M. Qualitative analysis of the regularities of the drying of a droplet of a multicomponent solution on a solid substrate // Journal of Technical Physics. 2007. Vol. 77, No. 2. P. 17–21.
7. Чудакова И.О. Микрорекристаллизация ротовой жидкости у лиц 15–25 лет с различной интенсивностью кариеса и ее изменения при акупунктурном воздействии // Здравоохранение. 2000. № 1. С. 17–19. Chudakova I.O. Microcrystallization of oral fluid in persons 15–25 years old with varying caries intensity and its changes with acupuncture // Zdravoohranenie. 2000. No. 1. P. 17–19.
8. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М.: Хризопраз, 2001. 304 с. Shabalin V.N., Shatokhina S.N. Morphology of human biological fluids. Moscow: Chrysopraxe, 2001. 304 p.

Поступила в редакцию 25.12.2018.

THE USE OF LABORATORY PORTABLE DEVICE CRYSTALLINA TO STANDARDIZE A PRE-ANALYTICAL STAGE OF CRYSTALLOGRAPHY IN ORAL FLUID

Yu.A. Churakova, A.A. Antonova

Far Eastern State Medical University (35 Karl Marks St. Khabarovsk 680000 Russian Federation)

Objective: The study objective is to determine the effectiveness of functional laboratory device Crystallina to standardize pre-analytical stage of crystallography of oral fluid.

Methods: We took oral fluid samples from 96 children aged 9–11 y.o. Saliva samples were examined with a standard method in a control group (48 people); we used the device Crystallina to examine samples in an experimental group (48 people).

Results: The frequency of a standard qualitative sample of a saliva drop and facies was 90% in the experimental group, and it was 45% in the control group.

Conclusions: Leveling a horizontal surface with the additional equipment of Crystallina enables to take a drop of mixed saliva that meet the standards. The use of insulating cover blocks the insertion of foreign particles into the drop, and it enables to avoid artifacts. Obtained data provides evidence of high effectiveness of a portable laboratory device Crystallina to standardize a pre-analytical stage of crystallography of any biological fluid.

Keywords: device, oral fluid, drop, method of cone dehydration