

Ж.Ж. ИТБАЕВА, И.А. ТКАЧЕНКО, Р.Д. НУРТИГЕНОВА, Г.К. КУНШАШОВА

О ПРИМЕНЕНИИ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ АНТИ-А И АНТИ-В В СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЕ

Актюбинский филиал центра судебной медицины, г. Актюбе

Повышению эффективности судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств, способствует внедрение в экспертную практику новых методов анализа и расширение объема применяемых диагностических реагентов.

В 1975 г. Г. Келлер и К. Мильштейн [5-7] разработали способ получения моноклональных антител (МКА). Клон в биологии - это колонии, образующиеся при бесполом делении одной клетки, в результате чего образуются чистые линии клеток [9]. В иммунологии под термином «клеточный клон» подразумевается совокупность клеток, возникающих под влиянием антигена из лимфоцита, находящегося на антигенно-зависимой стадии развития [1,4].

Г. Келлер и К. Мильштейн предложили методику получения клеточных гибридов-гибридом от слияния нормальных лимфоцитов иммунизированных животных (селезенка мышей) с культивируемыми в питательной среде клетками миеломных штаммов. От лимфоцитов гибридная клетка получает способность синтезировать определенное антитело и выживать в определенной питательной среде, а от миеломной клетки - свойство бесконечно размножаться *in vitro*, образуя гибридомный клон. Все антитела, вырабатываемые клоном, идентичны по классу молекулы, ее типу, специфичности и авидности. Они взаимодействуют только с одной антигенной детерминантой [2,3].

Методика гибридомы позволила разрешить проблему длительного производства гомогенных антител к разнообразным антигенам. В сыворотке крови и асцитической жидкости мышей, несущих гибридомную опухоль, титр антител очень высок. Такая технология получения антител является доступной и качественной, не требует их очистки.

Использование продуктов гибридомной технологии в медицине (клеточной инженерии) является примером проникновения науки в прикладные области исследования. МКА находят широкое применение в таких областях науки, как иммунология, иммуногенетика, биохимия, генетика человека, биология клетки и опухолей.

Относительно возможности использования МКА в судебной медицине имеются лишь единичные публикации теоретического характера [8], в тоже время сведения МКА в практической экспертизе вещественных доказательств мы редко встречали.

Целью нашей работы явилось изучение возможности широкого использования МКА для нужд практической судебной медицины с применением регламентированных методов анализа. Одновременно реакции проводили с изогемагглютинидами анти-А и анти-В.

Объектами нашего исследования были жидкая кровь живых лиц и трупов, а также кровь и слюна живых лиц, кровь трупов в виде экспериментальных пятен на марле.

С помощью реакции агглютинации на плоскости мы в соответствии с краткой инструкцией по применению ЭритроТест ТМ-Цоликлонов Анти-А и анти-В, диагностических жидких для определения групп крови человека системы АВО (антитела моноклональные), утвержденной приказом №2 МЗ РФ от 05.10.2000 г. исследована жидкая кровь 30 живых лиц в том числе 15 образцов группы А, 5 - группы В, 3 - группы АВ и 7 - группы О (учет результатов в течение 5 мин). Во всех случаях результаты были достоверными, причем агглютинация соответствующих эритроцитов МКА наступала в первые секунды.

Пятна крови от живых лиц и трупов мы исследовали реакцией количественной абсорбции (КРА) и реакцией абсорбции-элюции (РАЭ). В реакцию мы вводили высушенную на марле кровь (от 40 живых лиц и от 40 трупов из лабораторного архива) давностью образования 10 сут., 30 сут., 2, 3, 6 мес. и 1 год, из них 24 образца группы А, 24 образца группы В, 6 - группы АВ, 26 - группы О.

В КРА положительные результаты с МКА получены нами лишь со следами крови давностью не более 3 месяцев (антитела вводили в реакцию в титре 1:32, абсорбция 20 ч, учет результатов микроскопически после 4 мин. центрифугирования при 1500 об/мин.

РАЭ со следами крови мы проводили в соответствии с информационным письмом Центра судебной медицины Минздрава РК. Фиксация этиловым спиртом в течение 15 мин. В аналогичных условиях исследовали и нефиксированный материал. Антитела вводили в реакцию в титре 1:128, абсорбция 20 ч, элюция в пробирках в 0,2 % взвесь стандартных эритроцитов групп А,В,О,АВ при $T+56^{\circ}\text{C}$.

В условиях реакции МКА были специфичны. При учете результатов во всех случаях четко выраженные агглютинаты наблюдали с нефиксированным материалом. С фиксированным материалом агглютинаты выражены слабее, в 3 случаях не выявлены (следы крови давностью 1 год).

Слюну мы исследовали реакцией количественной абсорбции и РАЭ. Следы высушенной на марле слюны получили от 40 живых лиц: 2 образца группы АВ (выделителей), 1 - группы АВ (невыделитель), 9 - группы А (выделителей), 3 - группы А (невыделителей), 10 - группы О (выделителей), 3 - группы О (невыделителей). Следы давностью 10 сут, 30 сут, 6, 7, 8, 11 месяцев, 1 год.

Реакцией количественной абсорбции групповые антитела А и В выявлены МКА у лиц категории «выделитель». Со слюной всех невыделителей этой реакцией с МКА получены отрицательные результаты.

РАЭ мы проводили в соответствии с методическими рекомендациями. Материал исследовали как после фиксации, так и в нефиксированном виде. Абсорбцию осуществляли в течение 2 и 20 часов в условиях бытового холодильника, элюция - в 0,2 % взвесь эритроцитов при $T+50^{\circ}\text{C}$ в течение 25 минут в пробирках.

Обоими реагентами антигены А и В были выявлены во всех образцах слюны лиц категории «выделитель», причем с МКА анти-А лучшие результаты получены при абсорбции в течение 2 часов с нефиксированным материалом, с антителами анти-В положительные результаты наблюдали лишь при абсорбции в течение 20 часов с фиксированным материалом. При исследовании нефиксированного материала МКА анти-В агглютинаты почти не наблюдались, проба на истощение антител в 3 случаях положительная.

С тремя образцами слюны группы А во всех вариантах РАЭ наблюдали слаболожительный результат с МКА анти-В, причем увеличение срока абсорбции приводило к его усилению.

Со слюной невыделителей во всех случаях результат РАЭ с МКА отрицательный.

Авторами статьи, в результате исследования образцов крови и слюны с использованием МКА анти-А и анти-В установлено следующее:

- реагенты в реакциях агглютинации, количественной абсорбции и РАЭ высокоспецифичны и активны;
- реакцией агглютинации в жидкой крови групповые свойства А и В выявляются во всех образцах;
- реакцией количественной абсорбции антигены А и В достоверно выявляются в пятнах крови давностью не более 3 месяцев (последнее обстоятельство может быть использовано для ориентировочного установления времени образования следов крови, однако этот вопрос требует дополнительного изучения);
- РАЭ антигены А и В в следах крови выявляются во всех случаях, причем лучшие результаты получены с нефиксированным материалом;
- реакцией количественной абсорбции в образцах высушенной на марле слюны лиц категории выделитель антигены А и В выявлялись во всех случаях;
- в следах слюны лиц категории «невыделитель» реакцией количественной абсорбции и РАЭ антигены А и В не выявляются (возможно, причина этого явления заключается в свойствах субстрата, использованного для иммунизации; однако это свойство антител данного клона в РАЭ может иметь значение при экспертизе следов слюны малых размеров для уточнения вывода об их происхождении от невыделителя (под контролем изоагглютининов анти-А и анти-В));
- РАЭ в следах слюны лиц категории «выделитель» антигены А и В выявляются во всех случаях; антиген А лучше выявляются в нефиксированном материале при абсорбции в течение 2 часов. При выявлении антигена В положительные результаты получены только при исследовании фиксированного материала и абсорбции в течение 20 часов;
- антитела анти-А и анти-В данного клона могут (с учетом выявленных особенностей) использоваться для задач судебной медицины, причем предварительная работа с образцами крови и слюны является обязательной.

Таким образом, использование МКА в судебно-медицинской практике является наиболее оптимальным вариантом для решения задач судебной медицины, а именно, для выявления антигенов системы АВО, что делает этот вид исследования наиболее объективным в деятельности эксперта.

Литература:

1. Бернет Ф. Клеточная иммунология. - Москва. - 1971. - С. 285-288.
2. Вершигора А.Е. Основы иммунологии. - Киев. - 1980. - С. 156-158.
3. Кульберг А.Я. Молекулярная иммунология. - Москва. - 1985. - С. 89-93.

4. Купер Э. Сравнительная иммунология. - Москва. - 1980. - С. 146.
5. Куц А.А., Цой Л.А., Полетаев А.И. и др. Моноклональные антитела в микробиологии и вирусологии. - Москва. - 1985. - С. 7-9.
6. Моноклональные антитела. Гибридомы: новый уровень биологического анализа / Под ред. Кеннета Р.Г. и др. - Москва. - 1983. - С. 9-10.
7. Петров Р.В. Иммунология. - Москва. - 1983. - С. 89-90.
8. Потапов Р.В., Куприна Т.А. Судебно-медицинский эксперт. - 1987. - № 2. - С. 28-31.
9. Робертис Э., де Новински В., Саас Ф. Биология клетки. - Москва. - 1967. - С. 4-6.

ТҮЙІН

Ж.Ж. ИТБАЕВА, И.А. ТКАЧЕНКО, Р.Д. НҮРТИГЕНОВА, Г.К. КҮНШАШОВА

АНТИ-А ЖӘНЕ АНТИ-В МОНОКЛОНАЛДЫ АНТИДЕНЕЛЕРІН СОТ МЕДИЦИНАСЫНДА ҚОЛДАНУ ТУРАЛЫ

Сот медицина орталығының Ақтөбе филиалы, Ақтөбе қаласы

Мақала авторлары қан және сілекей үлгілерін анти-А және анти-В МКА-ін пайдалана зерттей отырып, МКА пайдалану сот-медицина практикасында сот медицинасының мәселелерін шешуге, оның ішінде АВО жүйесінің антигендерін анықтауға ықтималды жол екендігін, бұл зерттеу түрі сараптамашылардың іс-әрекетін барынша объективтілендіретінін дәлелдейді.

SUMMARY

ZH.ZH. ITBAYEVA, I.A. TKACHENKO, R.D. NURTIGENOVA, G.K. KUNSHASHOVA

ABOUT THE USE OF MONOCLONE ANTI-A AND ANTI-B ANTIBODIES IN FORENSIC MEDICINE

The Aktyubinsk branch of the forensic medical center, Aktobe city

The authors of the article, having investigated the blood sample and saliva with the use of monoclon anti-A and anti-B antibodies (MCA), came to the conclusion that the use of MCA in forensic medical practice was more optimal variant for the solution of problems of forensic medicine, namely for revealing of antibodies of ABO systems that do this kind of investigation more objective in the expert activity.

Ж.Е. БЕКЕНОВ, С.У. ТУРМАГАМБЕТОВА, М.А. АЛАШБАЙ, Л.Б. НУРМАГАМБЕТОВА

РАСПРОСТРАНЕНИЕ БЛОХ ЖИЛЬЯ ЧЕЛОВЕКА (P.IRRITANS) НА ЗАПАДЕ АКТЮБИНСКОЙ ОБЛАСТИ

Актюбинская противочумная станция, г. Актобе

Распространение и численность синантропных блох являются важным социальным фактором эпидемического потенциала. В литературе по эпидемиологии чумы неоднократно подчеркивалось значение человеческой блохи Pulex irritans в передаче возбудителя чумы от больного человека к