

© В. Л. Сидоров, О. Д. Ягмуров, 2013 г.  
УДК 616-079.6:577.1-083.3

**В. Л. Сидоров, О. Д. Ягмуров**

## **ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ПРИ УСТАНОВЛЕНИИ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ НА ВЕЩЕСТВЕННЫХ ДОКАЗАТЕЛЬСТВАХ**

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова; Бюро судебно-медицинской экспертизы, Санкт-Петербург

### **ВВЕДЕНИЕ**

Первым этапом судебно-биологической экспертизы является выявление на вещественных доказательствах следов биологического происхождения, в частности, крови. Затем необходимо определить их видовую принадлежность, т. е. установить, принадлежат ли они человеку или животному. На сегодняшний день наиболее часто и широко применяемой реакцией для установления видовой принадлежности биологических объектов является реакция встречного иммуноэлектрофореза в агаре [1, 3, 8].

В. П. Ольховик (1986) [4], а также В. В. Томилин и др. (1989) [7] для определения видовой принадлежности биологических объектов предложили метод встречного иммуноэлектрофореза на ацетатцеллюлозной пленке, который в последнее время получил распространение в судебно-медицинской практике в ряде бюро СМЭ. Кроме того, в главном бюро СМЭ РФ в Москве применяется обти-тест, который обладает достаточно высокой чувствительностью и позволяет одновременно определять как наличие крови, так и принадлежность ее человеку [2].

В отечественной судебно-медицинской литературе [6, 7] освещается проблема необходимости более чувствительных методов в экспертной практике для установления видовой принадлежности биологических объектов, в частности, рекомендуется реакция иммунофлюоресценции (РИФ), которая достаточно широко применялась за рубежом в 1980-е гг. Однако эта методика не нашла широкого применения в биологических отделениях территориальных бюро судебно-медицинской экспертизы в связи с трудоемкостью, невысоким качеством отечественных флюоресцирующих сывороток и субъективной оценкой полученных результатов (В. О. Плаксин и др., 1994). В некоторых отечественных бюро СМЭ для установления видовой принадлежности крови применяются иммунохроматографические тесты «Seratec®Hemdirect», «Hexagon obti». В последние годы за границей достаточно

широкое распространение получила методика установления наличия крови и одновременно ее видовой принадлежности по гликофорину А человека — «RSID™-Blood» [10], кроме того, в зарубежных лабораториях для установления видовой принадлежности крови по IgG достаточно широко используется метод иммуноферментного анализа (ИФА) [9].

### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Нами была разработана методика для установления видовой принадлежности биологических объектов, в частности, крови, в следах на вещественных доказательствах, а также костей, мышц и других фрагментов трупов по IgG человека с помощью количественного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Она оформлена как новая медицинской технология совместно с Российским центром судебной медицины в Москве (ФГУ РЦСМЭ Минздравсоцразвития РФ). Используемый тест-набор «IgG-общий-ИФА-БЕСТ» предназначен для определения IgG-общего (выделяют четыре изотипических подкласса IgG, кодируемых цифрами и обозначаемых как IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4). Подклассы IgG различаются по способности связывать комплемент и активировать его по альтернативному пути, связываться с рецептором к Fc-фрагменту IgG на разных типах клеток и проникать через плаценту. С помощью указанного тест-набора можно измерить суммарно в сыворотке крови человека все подклассы IgG (IgG-общий).

Принцип метода заключается в том, что в результате количественного твердофазного ИФА образуется специфический иммунный комплекс с использованием иммобилизованных IgG-антител и моноклональных IgG-антител, меченых пероксидазой. Исследуемые IgG в результате анализа оказываются как бы «зажатыми» между молекулами иммобилизованных и меченых антител, что послужило поводом для широкого распространения в литературе такого названия этого метода, как «сэндвич»-метод (англ. «sandwich»). В литературе встречается и другое его название — «двухцентровой метод ИФА» (англ. «two-site assay»). Данный комплекс выявляется посредством окраски с помощью раствора тетраметилбензидина, после чего в лунки полистирольного планшета вносят стоп-реагент. Регистрация результатов реакции осуществляется фотометрически на регистрирующем приборе при длине волны 450 нм с введением результатов в компьютер.

Новая медицинская технология апробирована на заведомых образцах крови человека, высушенных на марле, а также на фрагментах трубчатых человеческих костей и мышц. Чувствительность реакции обнаружения IgG — разведение 1:10 000 000 и выше. По сравнению с традиционно применяемыми для судебно-медицинского исследования методиками установления видовой принадлежности

**Результаты применения метода ИФА для установления видовой принадлежности крови по IgG в бюро СМЭ Санкт-Петербурга за 2012 г.**

Экспертиза		Количество проб на наличие IgG
наличие IgG на вещественных доказательствах	количество экспертиз	
Выявлен на в/д	38	+ (положит.) – 444
Не выявлен на в/д	17	– (отрицат.) – 180
Всего	55	624

биологических объектов, обнаружение IgG-методом твердофазного иммуноферментного анализа обладает рядом существенных преимуществ:

1) высокая чувствительность и специфичность в сочетании с объективной регистрацией и возможностью компьютерной обработки результатов. Документирование результатов ИФА в табличной форме позволяет дополнительно иллюстрировать заключения экспертов;

2) высокая технологичность и производительность метода. В ходе проведения экспертных исследований данной методикой неоднократно были получены положительные результаты в пятнах, следах и участках на вещественных доказательствах, где реакцией встречного иммуноэлектрофореза видовую принадлежность биологических объектов установить не представилось возможным. Кроме того, удалось установить видовую принадлежность фрагментов мышечной ткани, подвергшихся сильным гнилостным изменениям;

3) высокая экономическая эффективность метода: в 7–8 раз меньшая стоимость реагентов по сравнению со стоимостью иммунохроматографических пластин.

Мы провели анализ экспертиз за 2012 г., в которых использовалась разработанная нами технология. Результаты приведены в таблице.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Из данных таблицы видно, что методика обнаружения IgG человека посредством ИФА в следах и участках на вещественных доказательствах в судебно-биологическом отделении СПб. БСМЭ также применяется достаточно широко и весьма информативна. В ходе проведения экспертных исследований с помощью разработанной нами технологии неоднократно были получены положительные результаты в пятнах, следах и участках на вещественных доказательствах, где другие методы дали отрицательный результат.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Барсегацц Л. О. Определение видовой принадлежности пота. Сообщение 2 // Суд.-мед. экспертиза. — 1974. — Т. 17. — № 2. — С. 33–35.
2. Гуртовая С. В., Тучик Л. Н., Кургузиева О. В. Использование обти-теста для установления наличия и видовой принадлежности крови в пятнах // Суд.-мед. экспертиза. — 1999. — Т. 44. — № 5. — С. 23–25.

3. Ильина Е. А. Одновременное установление наличия и принадлежности крови человеку (приматам), птицам и рыбам методом электрофореза // Суд.-мед. экспертиза. — 1991. — Т. 34. — № 1. — С. 28–32.

4. Ольховик В. П. Применение электрофореза на пленках из ацетата целлюлозы при установлении видовой специфичности белка // Суд.-мед. экспертиза. — 1986. — Т. 29. — № 3. — С. 32–36.

5. Плаксин В. О., Конгауров В. В., Попов В. Л. и др. Биофизические методы исследования в судебной медицине // Лабораторные методы исследования в судебной медицине и задачи судебно-медицинской науки и практики по их совершенствованию: Материалы VIII Всеросс. пленума судебных медиков. — Н. Новгород, 1994. — С. 83–86.

6. Стегнова Т. В., Кисин М. В. Применение метода иммунофлюоресценции при экспертизе микроследов крови на орудиях травмы // Материалы 1-го Всеросс. съезда судебных медиков. — М., 1981. — С. 103–105.

7. Томилин В. В., Барсегацц Л. О., Гладких А. С. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств. — М: Медицина, 1989. — 303 с.

8. Чарный В. И. Установление видовой специфичности белков крови. — М.: Медицина, 1976. — 127 с.

9. Hurley I. P., Cook R., Laughton C. W. et al. Detection of human blood by immunoassay for applications in forensic analysis // Forensic. Sci. Int. — 2009. — Vol. 10. — № 1–3. — P. 91–97.

10. Schweers B. A. et al. Developmental validation of a novel lateral flow strip test for rapid identification of human blood (Rapid Stain Identification – Blood) // Forensic Sci. Int. Genet. — 2008. — Vol. 2. — № 3. — P. 243–247.

## РЕЗЮМЕ

*В. Л. Сидоров, О. Д. Ягмуров*

**Опыт использования иммуноферментного анализа при установлении видовой принадлежности крови на вещественных доказательствах**

Представлен анализ опыта, как отечественных, так и зарубежных авторов, по применению методик установления видовой крови в пятнах на вещественных доказательствах. Метод определения IgG посредством иммуноферментного анализа сравнивается с другими современными методиками, применяемыми в России. Широко раскрываются чувствительность, объективность, актуальность, а также другие возможности и преимущества данного метода при использовании его в судебно-медицинской практике.

**Ключевые слова:** иммуноферментный анализ, вещественные доказательства, пятна крови, видовая принадлежность.

## SUMMARY

*V. L. Sidorov, O. D. Yagmurov*

**ELISA method in identification of the blood in the stains on the material evidences**

The article presents the analysis of experience, both of domestic, and of foreign authors in application of the techniques for identification of the blood in the stains on material evidences. The method of definition of IgG by means of ELISA is compared with other modern techniques applied in Russia. Sensitivity, objectivity, actuality and other qualities and advantages of this method are widely displayed when applied in forensic practice.

**Key words:** ELISA, material evidences, bloodstains, identification.