

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГРИБКОВ ОНИХОМИКОЗА НА СПЕЦИФИЧНОСТЬ РЕАКЦИИ АВО В СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ПРАКТИКЕ.

Каракулова Айгуль Шайдуллаевна

магистрант Евразийского Национального университета им. Л.Н. Гумилева, Республика Казахстан, г. Астана

Жакупова Толкын Зейнакабиденовна

канд. мед. наук, доц., заведующая кафедрой судебной медицины № 2 АО «Медицинский университет Астана», Республика Казахстан, г. Астана

The influence of onychomycosis fungi on the specificity of the ABO reaction in forensic medicine

Tolkyn Zhakupova

candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Forensic Medicine No. 2 of JSC "Medical University Astana"

Aigui Karakulova

graduate student of L.N.Gumilyov Eurasian National University, Kazakhstan, Astana

Аннотация. В данной статье рассматривается влияние грибков-дерматомицетов на ход реакции абсорбции-элюции ногтей в судебно-медицинской практике и методы для предотвращения этого влияния. Использовались следующие методы: абсорбции-элюции по Гуртовой, абсорбции-элюции на бляшках, абсорбции-элюции по Стегнуовой. В статье выяснены особенности этих реакций, дается сравнительный анализ, описываются факторы влияющие на специфичность проведения реакции и пути их предотвращения. Используя метод Гуртовой, Стегнуовой получилось исключить влияние дерматофитов в отличие от классического метода и на бляшках, которые удобны при использовании на объектах, не вызывающих сомнения в присутствии дерматофитов.

Abstract. This article considers the reaction of absorption-elution of nails in forensic medicine. We used such methods as: absorption-elution by Gurtova, absorption-elution on plaques, absorption-elution according to Stegnova. The features of these reactions are clarified, and we gave comparative analysis of factors that influences to the specificity of the reaction and ways to prevent them. Using the method of Gurtova, Stegnova, it was possible to exclude the influence of dermatophytes, unlike the classical method and on plaques, which are convenient when used on objects that do not cause doubt in the presence of dermatophytes.

Ключевые слова: реакция абсорции-элюции, АВО, дерматомицеты, онихомикоз.

Keywords: reaction of the absorption-elution, ABO, dermatomycetes, onychomycosis.

Введение. В судебной медицине существует ряд методов для установления личности преступника. Первоначальным этапом всякого идентификационного исследования является определение групповой принадлежности. Наиболее часто используемой в судебно-биологической практике является определение групповой принадлежности по системе АВО. Методика реакции абсорбции-элюции (РАЭ) ногтей и костей очень схожа. Эта методика позволяет существенно сократить круг подозреваемых, но существуют несколько факторов, влияющих на достоверность при учете результатов проведения реакции АВО ногтей: гнилостные процессы, обугление, химические растворители, влияние грибков. Не всегда легко отличить грибковую инфекцию от других условий для ногтей. Например, псориаз может также повлиять на ногти и выглядеть они будут как при грибковой инфекции. Чтобы узнать точный вид грибка, который вызвал инфекцию грибковая культура должна быть выращена. Это может занять около трех недель. В этой статье показана проработка современных методик по влиянию грибков-дерматомицетов на определение групповой принадлежности по системе АВО. Для сравнения выявления групповых антигенов А, В, Н использовались 3 системы: реакцией абсорбции-элюции (по Гуртовой), на бляшках реакцией абсорбции-элюции, реакцией абсорбции-элюции (по Стегнуовой).

Объекты исследования. В качестве объектов были использованы срезы ногтей больных онихомикозом от живых лиц г. Астана. В качестве контроля забирались образцы у здоровых людей без признаков присутствия дерматомицетов, а именно онихолизиса, изменения цвета, формы ногтя за счет подногтевого гиперкератоза и деструкции ногтевой пластинки. Всего было проанализировано 32 объекта.

Материалы и методы. В процессе исследований использовались следующие материалы: метиловый спирт, контроли, стандартные эритроциты групп А, В, Н с высокой агглютинабельностью, взятые в день постановки реакции, моноклональные сыворотки, лектины, цоликлоны, ногтевые пластины пораженные онихомикозом (объекты исследования).

Для определения титра в исследуемой сыворотке приготавливают ее разведение в изотоническом растворе хлорида натрия. Для этого в штатив ставят несколько пробирок, обозначенных соответственно 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 и т.д. добавляют пипеткой по 10 капель (примерно 1 мл) изотонического раствора. Далее в первую пробирку той же пипеткой добавляют 10 капель исследуемой сыворотки и перемешивают ее путем встряхивания пробирки. Из этой пробирки 10 капель переносят в следующую, перемешивают и так до последней пробирки. Таким образом в пробирках образуется разведение сыворотки от 1:2 до 1:256.

Выявление групповых антигенов А, В, Н реакцией абсорбции-элюции (по Гуртовой): кусочки ногтей по 7 мг из исследуемых объектов, образцы ногтей групп А, В, 0 помещают в пробирки и добавляют по 3 капли изогемагглютинирующих (гетероиммунных, моноклональных) сывороток анти-А и анти-В с титром 1:128, экстрактом бузины травянистой (цоликлоном анти-Н) с титром 1:128. Абсорбция 18 часов при Т+4°C. Абсорбированные кусочки отмывали физиологическим раствором. Элюцию проводят в пробирках в физиологический раствор при Т+52°C в течение 30 минут. Элюаты переносили в чистые пробирки и добавляли по 1 капле 0,5% взвеси стандартных эритроцитов групп А, В, 0, приготовленной на 1% растворе альбумина (или на сыворотке человека АВ группы). Учет результатов микроскопический после центрифугирования в течение 4 минут при 1500 об/минуту.

Выявление групповых антигенов А, В, Н на бляшках реакцией абсорбции-элюции: из ногтевых опилок, образцов ногтей групп А, В, 0 и клея БФ - 6 готовили бляшки, которые после высыхания абсорбируют изосыворотками (гетероиммунными, моноклональными) анти-А, анти-В с титром 1:128 и экстрактом бузины травянистой (цоликлоном анти-Н) с титром 1:128. Абсорбция в течение 18 часов при Т+4°C. Отмывание охлажденным физиологическим раствором 6 раз, для выявления антигена Н - 3 раза. Элюцию проводят в 0,5% взвесь стандартных эритроцитов групп А, В, 0, приготовленную на 1% растворе альбумина, в термостате при Т+50°C в течение 30 минут, (для антигена Н - 20 минут). Учет результатов микроскопический через 2 часа выдерживания препаратов во влажных камерах при комнатной температуре.

Выявление групповых антигенов А, В, Н реакцией абсорбции-элюции (по Стегновой): из промытых и обезжиренных ногтевых кусочков, заведомых образцов ногтей групп А, В, О готовят навески по 7 мг, абсорбируют 2–3 каплями изосывороток (гетероиммунных, моноклональных) анти-А, анти-В с титром 1:128 и экстрактом бузины травянистой (целиклоном анти-Н) с титром 1:128. Абсорбция при Т+4°С в течение 18 часов. Отмывание охлажденным физиологическим раствором 2–3 раза с применением центрифугирования по 10 минут при 1500 об/минуту. К осадкам добавляют по 2 капли физиологического раствора. Элюцию проводят при Т+45°С в течение 30 минут. К элюатам добавляют по 1 капле 0,5 % взвеси стандартных эритроцитов, приготовленной на 1 % альбумине. Центрифугирование 2 мин. при 1500/об минуту. Учет результатов микроскопический [1, с. 272].

Особенность каждой из этих методик – в реакции в продолжительности элюции, особенности отмывания, в характере использованной взвеси (7мг навесок, опилки, кусочками). Также следует отметить усиленную агглютинацию по сравнению с другими антигенами ногтей В(III) группы.

Факторы негативно влияющие на постановку реакции АВО и пути их предотвращения: можно отдельно выделить то, что на постановку реакции влияют множество факторов: такие как обугление, гниlostные процессы и химические растворителей. Результат становится отрицательным, так как происходит денатурация белков или их разрушение. Воздействие высоких температур негативно сказывается, и выделяют белую, серую и черную степень каления костей и ногтей. Наиболее привлекательной для исследования является черная степень каления. Предотвратить влияние возможно путем экстрагирования в дистиллированной воде в течение 18–24 часов.

Воздействие моющих, эмульгирующих средств, при наличии белил, штукатурки, извести и других веществ может привести к неспецифическим явлениям, так как они обладают денатурирующим свойством и могут привести к осаждению белков.

Результаты и их обсуждение. После обнаружения ониомикоза на двадцати объектах была проведена следующая часть исследования: реакция абсорбции-элюции. В первую очередь была проведена классическая модель определения групповой принадлежности в ногтях, которая показала отсутствие специфичности, так как не были сработаны контроли. Для того чтоб выявить наиболее подходящий метод идентификации антигенов по РАЭ, были проведены проработки методик предшественников, которые несколько отличаются сроком абсорбции, температурой при элюции, наличием специфических реагентов, например экстракта бузины или сыворотки альбумина, которые не используются в обычной практике. Проводили эти реакции пробирочным методом и на предметных стеклах. В заключение можно выделить метод Гуртовой как наиболее подходящий для идентификации групповых антигенов (Таблица 1).

Таблица 1.

Сравнение результатов проведенного исследования

Используемая методика абсорбции-элюции	Контроли			Исследуемые объекты (8 об) В(III) группы			Исследуемые объекты (8 об.) А(II) группы			Исследуемые объекты (4 об.) О(I) группы			
	А	В	О	А	В	О	А	В	О	А	В	О	
Классический	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	-	-	+	Неспецифичность
По Гуртовой	+	+	+	-	+	+	+	-	+/-	-	-	+	Специфичность
На бляшках	+	+/-	+	-	+/-	+	+/-	-/+	+/-	-	-	+	Сомнительно
По Стегновой	+	+/-	+	-	+/-	+/-	+	-	+/-	-	-	+	Специфичность

Выводы: При исследовании обнаружено влияние грибков, которое удалось исключить используя метод Гуртовой, Стегновой. Использование классического и метода на бляшках считаю целесообразным использовать на объектах, не вызывающих сомнения в присутствии *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton interdigital* и др. дерматофитов.

Список литературы:

1. Барсегянц Л. О. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств /руководство для судебных медиков – М.: «Медицина», 1999 г. – 272 с.