ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ СОҒЛИҚНИ САҚЛАШ ВАЗИРЛИГИ

ТОШКЕНТ ТИББИЁТ АКАДЕМИЯСИ

Қўлёзма ҳуқуқида

УДК: 615.373:612.118.221.2-08

ЧОРИЕВ БЕРУНИЙ АКБАРОВИЧ

СУД ТИББИЁТИДА ҚЎЛЛАШ МАҚСАДИДА ОДАМ ВА ҲАЙВОН ОҚСИЛЛАРИНИ ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ИММУН ЗАРДОБЛАРНИ ОЛИШ ИМКОНИЯТЛАРИ

14.00.24-Суд тиббиёти

Фaлсaфa дoктoри (PhD) илмий дaрaжaсини oлиш учун

ДИССЕРТAЦИЯ

Илмий раҳбар:

тиббиёт фанлари номзоди,

доцент И.И.Бахриев

Тошкент – 2020

МУНДАРИЖА

|  |  |
| --- | --- |
| КИРИШ ……………………………………....….……………….................. | 3 |
|  |  |
| I-боб.  | ОҚСИЛ ТУРЛАРИНИ АНИҚЛАШ ВА ИММУН ЗАРДОБЛАР ОЛИШНИНГ БУГУНГИ КУН ҲОЛАТИ (адабиётлар шарҳи) ........................................................................ | 11 |
|  | § 1.1. Оқсилнинг тур мансублигини аниқлаш имкониятлари.......................................................................................... | 11 |
|  | § 1.2. Иммунизация ва турли антигенларга иммун зардоблар олиш масалалари................................................................................................... | 19 |
|  | § 1.3. Замонавий иммунологияда адъювантлар ўрни ............................. | 23 |
|  |  |  |
| II-боб.  | МЕТОДОЛОГИК ТАВСИФ ВА ҲАЙВОНЛАР ИММУНИЗАЦИЯСИ .................................................................. | 31 |
|  | § 2.1. Материалларнинг умумий тавсифи .................……………........... | 31 |
|  | § 2.2. Оқсил турини аниқлашнинг иммунологик усуллари …................ | 32 |
|  | § 2.3. Статистик усуллар ............................................................................ | 43 |
|  |  |  |
| III-боб. |  РСТЭИАМ ТОШКЕНТ ВИЛОЯТ ФИЛИАЛИ МАЪЛУМОТЛАРИГА КЎРА ДОҒЛАРДАГИ ҚОН ТУРИНИ АНИҚЛАШ БЎЙИЧА СУД-ТИББИЙ ЭКСПЕРТИЗА МАТЕРИАЛЛАРИНИНГ ТАҲЛИЛИ........................................ | 44 |
|  |  |  |
| IV-боб.  | СПЕЦИФИК ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ЗАРДОБЛАР ОЛИШ УЧУН ҲАЙВОНЛАРНИ ИММУНИЗАЦИЯЛАШДА ИММУНОМОДУЛЯТОР СИФАТИДА ФОРМАЛИНДАН ФОЙДАЛАНИШ .......................................................................... | 49 |
|  | § 4.1. Қон турини аниқлаш учун преципитацияловчи зардобларни олиш методикаси ........................................................................................ | 54 |
|  |  |  |
| V-боб.  | ОЛИНГАН ИММУН ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ЗАР-ДОБЛАРДАН ФОЙДАЛАНИБ ҚОН ТУРИНИ АНИҚЛАШ .... | 60 |
|  |  |
| VI-боб. | ОЛИНГАН ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ЗАРДОБЛАРНИНГ СПЕЦИФИКЛИГИ ВА ЯРОҚЛИЛИК МУДДАТЛАРИНИ АНИҚЛАШ .................................................................................. | 65 |
|  |  |
| ХОТИМА ………………………….........…………………………………... | 72 |
| ХУЛОСАЛАР ………………………………………………………………. | 87 |
| АМАЛИЙ ТАВСИЯЛАР ….......................……………………................... | 88 |
| ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР …………………………………….. | 90 |

**КИРИШ**

**Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати.** Дунёда биологик ашёвий далилларни суд-тиббий текшируви инсон ҳаёти ва соғлиғига қаратилган оғир жиноятларни очиш ва муваффақиятли тергов қилиш учун муҳим аҳамиятга эга. «...ҳозирги вақтда аксарият суд-тиббий экспертиза лабораторияларида ҳар қандай турдаги экспертизаларни бажариш учун текшириладиган объектнинг алоҳида қисмларидан фойдаланилади...»[[1]](#footnote-1). Экспертлар томонидан «...бирор бир турдаги экспертиза ўтказилиши жараёнида бошқа турдаги тадқиқотларнинг хусусиятлари ва эҳтиёжлари инобатга олинмайди. Бундай ёндошувга, биологик материалнинг миқдори етарли бўлганидагина йўл қўйилиши, турли ашёвий далилларда топиладиган қон ёки ажралма доғлари, одам тўқималари кўпинча кичик миқдорда учраши кузатилади. Бундай ҳолатларда, суд-тиббий экспертиза тайинланганидан сўнг, аниқ маълумот олиш мақсадида қўшимча равишда молекуляр-генетик текширувлар ўтказилиши учун биологик материаллар етмай қолиши, иккинчидан, микрообъектларнинг фақат генетик тадқиқотларини ўтказилиши доимо ҳам мақсадга мувофиқ бўлмай, манфий натижалар олинган тақдирда бунинг юзага келиш сабаблари ҳақидаги савол очиқлигича қолади, яъни ДНК деградацияси, синамаларни тайёрлаш пайтида материалнинг йўқотилиши ёки одамга тегишли бўлмаган объектнинг ўрганилиши ҳисобланади...»[[2]](#footnote-2).

Суд-тиббий экспертиза амалиётида оқсилнинг тур мансублиги иммунологик текширув усуллари ёрдамида аниқланади. Реакцияни амалга ошириш учун юқори титрга эга преципитацияловчи иммун зардоблар лозим бўлади. Одатда бундай зардоблар ҳайвонларни ёт оқсиллар билан иммунизация қилиш ёрдамида олинади. Ҳайвонларни антигенлар билан иммунизациялашда инъекциялар орасидаги интервал эмперик тарзда танланади. Бугунги кунга қадар кенг тарқалган такрорий иммунизация усулидан фойдаланилади. Мазкур усул паст реактивликка эга бўлган ҳайвонлар учун кам самарали ҳисобланади. Шунинг учун уларга кучлироқ таъсир этувчи қўзғатувчилар зарур бўлади. Формалин билан ишлов берилган одам ёки ҳайвон қон зардоби оқсиллари билан қуёнларни иммунизация қилиш орқали юқори титрга ва спецификликка эга бўлган преципитацияловчи зардоблар олиш имконини беради. Формалин юқори реактив хусусиятга эга бўлиб, қон зардоби билан аралаштирилганда зардобдаги оқсиллар билан реакцияга киришади ва йирик ўлчамли ҳамда гидролитик ферментлар таъсирига барқарор молекуляр комплекслар ҳосил бўлишига олиб келади. Ушбу усулда олинган преципитацияловчи зардоблар доғлардаги қоннинг тур мансублигини аниқлашда диагностик ҳисобланади. Оқсилнинг тур мансублигини аниқлаш имконини берувчи, иқтисодий жиҳатдан фойдали ва сифатли преципитацияловчи зардобларни олиш йўлларини излаб топиш суд тиббиётининг долзарб муаммоларидан ҳисобланади. Иккинчидан, преципитацияловчи иммун зардобнинг Ўзбекистонда ишлаб чиқарилиши, соҳадаги долзарб масалаларидан бирини ҳал этиш имконини берган бўлар эди, ваҳоланки ушбу зардобларни чет мамлакатлардан сотиб олишда (валютада) айрим қийинчиликлар учраб турмоқда.

Жаҳонда суд тиббиётида қўллаш мақсадида одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи иммун зардобларни олиш имкониятларининг самарадорлигини баҳолашга йўналтирилган қатор илмий-тадқиқотлар олиб борилмоқда [9,10,35,54]. Бу борада суд-тиббий экспертиза муассасалари хулосаларидаги маълумотлар бўйича, доғдаги қоннинг тур мансублигини аниқлашда олинган манфий натижаларнинг таҳлилини асослаш ҳамда қоннинг тур мансублигини аниқлаш мақсадида юқори титрли специфик преципитацияловчи иммун зардобларни олишда, ҳайвонларни турли антигенлар (одам ёки ҳайвон қон зардоблари) билан иммунизация қилиш орқали формалиннинг стимулловчи хусусиятини баҳолашдан иборат. Преципитацияловчи иммун зардоблар ёрдамида турли тўқима матоларда жойлашган қон доғларининг тур мансублигини аниқлашда иммунологик реакция усулларидан фойдаланиш ҳамда улардан суд тиббиёти амалиётида қўллаш мақсадида преципитацияловчи иммун зардобларни ишлаб чиқариш алоҳида аҳамият касб этади.

Мамлакатимиз тиббиёт соҳасини ривожлантириш, тиббиёт тизимини жаҳон андозалари талабларига мослаштириш, қоннинг тур мансублигини аниқлаш, жиноятларни эрта аниқлаш ва камайтириш мақсадида «Соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида»ги Фармонида «...мамлакатимизда аҳолига кўрсатилаётган тиббий ёрдамнинг самарадорлиги, сифати ва оммабоплигини ошириш, шунингдек, тиббий стандартлаштириш тизимини шакллантириш, ташхис қўйиш ва даволашнинг юқори технологик усулларини жорий қилиш, патронаж хизмати ва диспансеризациянинг самарали моделларини яратиш ва касалликларни профилактика қилиш...»[[3]](#footnote-3) каби вазифалари белгиланган. Ушбу вазифалар аҳоли орасида турли жиноятларнинг тарқалишини олдини олиш ва камайтириш, воқеа жойларидаги қон доғларнинг тур мансублигини ўз вақтида аниқлашда замоанвий суд-тиббий экспертиза хизмати даражасини янги босқичга кўтаришда замонавий технологияларни қўллашни такомиллаштириш имконини беради.

Ўзбекистон Республикасининг «Суд экспертиза тўғрисида»ги (2010), «Меҳнатни муҳофаза қилиш тўғрисида»ги (2016) Қонунлари, 2017 йил
7 февралдаги 4947-сонли Президент Фармонида «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги, 2018 йил 7 декабрдаги «Ўзбекистон Республикаси соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлари тўғрисида»ги 5590-сонли Президент Фармонлари ҳамда Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 4 декабрдаги 4049-сонли Қарори «Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги суд-тиббий хизмати фаолиятини янада такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарори ва мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишда ушбу диссертация муайян даражада хизмат қилади.

**Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги**. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

**Муаммонинг ўрганилганлик даражаси.** Аксарият иммунологик текшириш усулларида ҳайвонларни турли антигенлар (АГ) билан иммунизация қилиниб, уларнинг қонидан олинадиган иммун зардобларни қўллаш кўзда тутилган бунда ушбу зардобларнинг активлиги текширув натижаларига сезиларли таъсир кўрсатади [Алексеенко Е.А., Быков И.М., 2017; Короткова В.А., Хомичук Т.Ф., 2016]. Иммун зардоблар олиш учун ҳайвонлар иммунизациясининг рационал схемасини танлаш, ушбу схема антигеннинг физик-кимёвий хусусияти, дозаси, киритиш усули, антигенни юбориш интервали ва сони, иммунизация циклининг умумий давомийлиги, бундан ташқари адъювантлар ва иммуномодуляторларнинг қўлланилишини кўзда тутади [Алиева Е.В., Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н. и др. 2008; Никенина Е.В., Абрамова А.Ю., 2018; Yan Cao et al., 2018]. Преципитацияловчи зардоблар олиш учун юқори самарали янги адъювантларни излаб топиш ва тадбиқ этиш ҳар доимгидек долзарб муаммо ҳисобланади. Унинг ечимини топиш ревакцинациялар сонини қисқартириш имконини беради. Бу эса организмга антиген юкламасини нафақат камайтиради, балки ҳайвонларни иммунизациялаш жараёнини ҳам сезиларли даражада осонлаштиради ва арзонлаштиради. Бундай адъювантларга аниқ талаблар қўйилади: улар бегона оқсилларнинг иммуногенлигини ва иммунитет кучланишини сезиларли даражада ошириши, токсиклик ва аллергенлик хусусиятларига эга бўлмаслиги лозим [Козлов В.Г., Хапчаев Ю.Х., Ишмухаметов А.А., 2016; Shoenfeld Y. et al., 2011].

Е.В.Алиева ва ҳаммуаллифларнинг (2008) таъкидлашича, қуёнларни иммунизациялашда Фрейнд тўлиқ адъюванти билан АГни схема бўйича кетма-кет тери ичига турли нуқталардан юборишлари натижасида, иммунизация қилинган ҳайвонларнинг фақат 25-30% дагина иммун жавоб олинган. Бунда иммунизациянинг муддати 2,5-3,0 ойни ташкил қилган, қуёнларда эса адъювант касаллиги ривожланган. Кейинчалик иммуномодулятор модда сифатида антитана ҳосил қилувчи Т- ва В-ҳужайраларнинг яққол ифодаланган кўпайишини келтириб чиқарувчи феракрил (полиакрил кислотасининг темир тузлари (II, III) аралашмаси) қўлланилган. Иммунизация схемаси ўзгартирилган: грундиммунизация АГ билан феракрилнинг 3%ли сув+спирт эритмаси аралашмасининг беш марта кетма-кет 3-7 кун интервал билан парентерал юборишни ўз ичига олган. АГ комплексини 3-4 кун оралиғида 4 марта вена ичига юборилиши иммунизациянинг асосий циклини ташкил этган. Қуёнларнинг бундай иммунизация схемасида иммунологик реакцияларда юқори специфик фаолликка эга бўлган гипериммун зардоблар олинди.

Берзина А.Г. ва ҳаммуаллифлар (2013) томонидан қуёнларнинг қулоқ чекка венасига 1,0 мл ҳажмда 1:1 нисбатда Фрейнд адъюванти билан антиген аралашмаси юборилиб, қуёнлар иммунизацияланган. Тери ости инъекциялари умуртқа поғонаси икки томонлама ўтмас ўсиқ бўйлаб 8 та нуқтада амалга оширилган, ҳар бир нуқтага 0,25 мл ҳажмда препарат юборилган. Муаллифлар томонидан таклиф этилган ҳайвонларни иммунизациялаш методикаси юқори титрли тур мансублигига қарши антителолар олиш имконини берган.

Сенченко Б.С. ва Гугушвили Н.Н. (2000) оқсилнинг тур мансублигини аниқлаш учун преципитацияловчи зардоблар олиш мақсадида қуёнга 0,3 мл тоза қонни тери остига юборган ва 5 кундан кейин 0,5 мл тоза қон яна тери остига юборилган, сўнгра худди шу тарзда 0,7 ва 0,9 мл. Тери остига охирги инъекция ўтказилганидан 5 кундан сўнг, сон соҳаси мушак орасига 1 мл тоза қон юборилган ва кейинги учта инъекция 1,5 мл.дан мушак орасига 5 кун интервал билан юборилган. Преципитация реакцияси учун қўлланиладиган антизардоблар юқори спецификликка эга бўлган, яъни қон ёрдамида гипериммунизация амалга оширилган ҳайвон тури зардоби билангина преципитат ҳосил қилган.

Ўзбекистон oлимлaрининг тaдқиқoтлaрида (Ж.Ж.Жалолов, Р.А.Хасанов, 1997-2012; Айдаркулов А.Ш., 1993; Т.Ж.Ахмедов, 2010) биологик ашёвий далиллардаги доғда қон мавжудлигини, унинг тур мансублигини кам миқдордаги доғда ҳамда ифлосланган доғларда аниқлаш имкониятлари ўрганилган. Бироқ, суд тиббиётида қўллаш мақсадида одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи иммун зардобларни олиш имкониятлари ўрганилмаган муаммо бўлиб қолмоқда. Амалий суд-тиббий экспертизанинг асосий вазифаларидан бирини ҳал этиш учун, ушбу муаммолар нафақат амалий материалда синовдан ўтказишни, балки экспериментал асослашни ҳам талаб қилади, тадқиқотнинг мақсад ва вазифалари шу билан асосланади.

**Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.** Диссертация тадқиқоти Тошкент тиббиёт академияси илмий-тадқиқот ишлари режасига мувофиқ «Инсон ва тажриба ҳайвонлар организми ҳаёт фаолияти кўрсатгичларининг ҳар хил патологик омиллар таъсиридаги функционал, метаболик ва структур ўзгаришларнинг ўзига хослиги ва уларни коррекциялаш йўллари, ҳамда суд-тиббий экспертиза объектларини эксперт баҳолашнинг янги имкониятлари» (2016-2020) мавзуси доирасида бажарилган.

**Тадқиқотнинг мақсади:** Суд-тиббий экспертиза амалиётида қўллаш мақсадида одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи иммун зардобларни олиш усулини ишлаб чиқишдан иборат.

**Тадқиқотнинг вазифалари:**

суд-тиббий экспертиза муассасалари хулосаларидаги маълумотлар бўйича доғдаги қоннинг тур мансублигини аниқлашда олинган манфий натижаларнинг таҳлили;

қоннинг тур мансублигини аниқлаш мақсадида юқори титрли специфик преципитацияловчи зардобларни олишда, ҳайвонларни турли антигенлар (одам ёки ҳайвон қон зардоблари) билан иммунизация қилиш орқали формалиннинг стимулловчи хусусиятини баҳолаш;

олинган преципитацияловчи зардоблар ёрдамида турли тўқимачилик матоларда жойлашган қон доғларининг тур мансублигини аниқлашда иммунологик реакция усулларини қиёсий текшириш;

олинган преципитацияловчи зардобларни суд-тиббий экспертиза амалиётида қўллаш мақсадида, уларнинг яроқлилик муддатларини текшириш.

**Тадқиқотнинг объекти.** Одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи иммун зардобларни олиш учун «Шиншилла» ва «Великан» қуён зотларидан фойдаланилди. Қуёнларни иммунизацияси учун антигени сифатида одам ва ҳайвонлар қони зардобларининг 1%, 5% ва 10%ли формалин эритмаси билан 1:1 нисбатдаги аралашмасидан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг предмети сифатида** титри1:5000 ва1:10000 бўлган одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи иммун зардоблар олинди. Одам ва ҳайвонлар (йирик ва майда шохли ҳайвон, парранда, от ва бошқалар) оқсил-антигенининг эритмалари. Одам ва ҳайвонлар қонинин гтурли тўқимачилик матоларда қуритиб тайёрланган доғлари олинган.

**Тадқиқотнинг усуллари.** Тадқиқотда иммунизация усули, преципитация, иммунодиффузия реакцияси ва статистик текширув усулларидан фойдаланилган.

**Тадқиқотнинг илмий янгилиги** қуйидагилардан иборат:

оқсилнинг тур мансублигини аниқлаш учун преципитацияловчи специфик иммун зардобларни олишда антиген ва иммуностимулятор сифатида формалинни ҳайвонларга юбориш орқали иммунизациянинг технологик имкониятларини кенгайтирилишига асосланган.

формалиннинг оптимал дозасидан фойдаланиб, унинг одам ёки ҳайвон зардоблари билан аралашмасини қуёнларга иммунизация қилиш орқали юқори титрли специфик преципитацияловчи иммун зардоблар олиниши исботланган.

радиал иммунодиффузия усули билан олинган преципитацияловчи специфик иммун зардобларни қўллаб, турли тўқимачилик матоларда жойлашган ва кичик ҳажмдаги қон доғларининг тур мансублигини аниқлаш мумкинлиги исботланди ва текширув объектининг тежамкорлиги таъминланди.

олинган преципитацияловчи иммун зардоблар титрининг турғунлиги, иммунизация учун қўлланилган антигеннинг турига боғлиқлиги исботланди: одам ва қуш (товуқ) оқсилини преципитацияловчи зардоблар 12 ой давомида, шохли ҳайвон ва от оқсилини преципитацияловчи зардоблар 9 ой давомида суд-тиббий экспертиза ўтказиш учун яроқлилиги аниқланди.

 **Тадқиқотнинг амалий натижалари** қуйидагидан иборат:

ашёвий далилларнинг суд-тиббий экспертизасида доғлардаги қоннинг тур мансублигини аниқлаш бўйича манфий натижаларининг 52,2%ни энг кўп миқдори қиш-баҳор мавсумига тўғри келади;

олинган преципитацияловчи зардобнинг титри 1:5000 дан паст бўлмаган тақдирда суд тиббиёти амалиётида қўллашда яроқли ҳисобланади ва муайян турдаги ҳайвон зардоби билангина реакциясига киришган;

ҳайвонларни иммунизациялаш натижасида олинган преципитацияловчи зардоблар юқори сезгирликка эга бўлиб, ҳаттоки сезиларли даражада суюлтирилган оқсил эритмаси билан ҳам (қон сиқмаси) мусбат реакция кўрсатган;

биологик ашёвий далиллар экспертизасида радиал иммунодиффузия усулининг қўлланилиши экспертиза сифатини ошириш имконини беради, шунингдек,мазкур усул оқсилнинг тур мансублигини аниқлашда қўлланиладиган усулларнинг имкониятларини кенгайтирилган;

олинган преципитацияловчи иммун зардоблар 9-12 ой ва ундан ортиқ муддатларда ўз титрини сақлаган ҳолатдагина суд-тиббий экспертиза амалиётида қўлланилиши мумкинлиги исботланган.

**Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги** ишда қўлланилган назарий ёндошув ва усуллар, олиб борилган тадқиқотларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, етарли даражада материал тўпланганлиги, тажриба ҳайвонлари сонининг етарлилиги, қўлланилган усулларнинг замонавийлиги, уларнинг бири иккинчисини тўлдирадиган эксперементал, иммунологик, инструментал ва статистик усуллар асосида оқсилнинг тур мансублигини аниқлаш мақсадида преципитацияловчи специфик иммун зардоблар олишнинг ўзига хослиги халқаро ҳамда маҳаллий тажрибалар билан таққослангани, хулоса, олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқланганлиги билан белгиланади.

**Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.** Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти, суд тиббиёти амалиётида оқсилнинг тур мансублигини аниқлашда преципитацияловчи специфик иммун зардобларни олиш имкониятларининг асосланлиги билан изоҳланади. Формалиннинг оқсил антигенлари билан оптимал комбинацияси асосида преципитацияловчи иммун зардобларни ишлаб чиқишнинг янги самарали ёндошувлари орқали, 90-95% ҳолатларда преципитацияловчи специфик иммун зардоблар олишга, иммунизация муддатларини, моддий ва меҳнат харажатларини сезиларли қисқаришига эришилди.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, формалиннинг иммуностимулловчи хусусиятига асосланган ҳолда ҳайвонларни иммунизациялашнинг самарали усули ишлаб чиқилган ва амалиётга татбиқ этиш учун таклиф этилган. Таклиф этилган усул суд тиббиёти мақсадларида қўллаш учун яроқли титр ва спецификликка эга преципитацияловчи иммун зардоблар олиш имкониятини берганлиги билан изоҳланади.

**Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши.** Суд тиббиётида қўллаш мақсадида одам ва ҳайвон оқсилларни преципитацияловчи иммун зардобларни олиш имкониятлари бўйича олинган натижалар асосида:

«Суд тиббиёти амалиётида қўллаш учун преципитацияловчи иммун зардобларни олиш усули» номли услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 18 октябрдаги 8н-р/423-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома оқсил турини аниқлаш учун преципитацияловчи специфик иммун зардоблар олинишинингтехнологик имкониятларини кенгайтирган, шунингдек олинган преципитацияловчи зардобларни суд-тиббий экспертиза амалиётида қўллаш имконини берган;

«Преципитацияловчи зардоблардан фойдаланиб қоннинг тур мансублигини аниқлаш усули» номли услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 27 ноябрдаги 8н-р/538-сон маълумотномаси) тасдиқланган. Мазкур тавсиянома оқсил турини аниқлаш учун преципитацияловчи специфик иммун зардоблар олинишининг технологик имкониятларини кенгайтирган, шунингдек олинган преципитацияловчи зардобларни суд тиббиёти амалиётида қўллаш имконини таъминлаган;

Суд тиббиётида қўллаш мақсадида одам ва ҳайвон оқсилларни преципитацияловчи иммун зардобларни олиш имкониятлари бўйича тавсиялар ва таклифлар соғлиқни сақлаш амалиётига, хусусан суд-тиббий экспертизаси илмий-амалий марказининг Тошкент, Самарқанд ва Бухоро вилоятлари филиалларининг иш фаолиятига тадбиқ этилган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2019 йил 20 декабрдаги 8н-д/314-сон хулосаси) Олинган тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий қилиниши иммун зардобларни олишда иммунизациянинг самарали усулини ишлаб чиқиш имконини берган, бу усул ҳайвонларда юқори иммун жавобни таъминлайди, иммунизация муддатларини, меҳнат ва моддий харажатларни сезиларли қисқартиради. Олинган иммун зардоблар юқори титрли специфик саналади ва суд тиббиёти амалиётида қўллаш учун яроқли ҳисобланади.

**Тадқиқот натижаларининг апробацияси.** Мазкур тадқиқот натижалари 5 та илмий анжуманларда, жумладан, 3 та халқаро ва 2 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

**Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги.** Диссертация мавзуси бўйича жами 15 илмий иш чоп этилган бўлиб, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертациялар асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 6 та мақола, жумладан, 4 таси республика ва 2 таси хорижий журналларда нашр этилган.

**Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши.** Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 108 бетни ташкил этган.

**I БОБ.**

**ОҚСИЛНИНГ ТУР МАНСУБЛИГИНИ АНИҚЛАШ ВА ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ИММУН ЗАРДОБЛАР ОЛИШНИНГ ЗАМОНАВИЙ ТАЛҚИНИ**

**§ 1.1. Оқсилнинг тур мансублигини аниқлаш имкониятлари**

Ашёвий далилларда биологик хусусиятга эга бўлган излар аниқланганда уларнинг тур мансублигини аниқлаш, яъни уларнинг одам ёки ҳайвонга тегишлилигини текшириш зарур бўлади. Бундай текширувнинг ўтказилиши, биринчидан, ашёвий далиллардаги объектларнинг нафақат одамга, балки ҳайвонларга ҳам тегишлилигини тахмин қилиш имконини бериши сабабли юзага келган воқеа тафсилотлари бўлса, иккинчидан- изларнинг гуруҳга мансублигини аниқлаш зарурияти сабабли ҳам юзага келади, бундай ҳолат эса уларнинг тур мансублигини аниқламасдан туриб ўтказилмайди [8, 18, 19, 21, 50, 61].

Серология фани (serum – қон зардобига таълуқли) қоннинг тур мансублигини аниқлашга асос солди. Одам қонини ҳайвон қонидан фарқлаш усулини биринчи бўлиб Грейфсвальд университетининг гигиена институти ассистенти Пауль Уленгут ишлаб чиққан. Усул моҳияти серологик реакциядан (преципитация – тегишли антиген билан таъсир этилганда антитаналарнинг чўкма ҳосил қилишидан) иборат бўлган. Серологик реакция учун қуённи одам оқсили (ёки муайян турдаги ҳайвон оқсили) билан иммунизациялаш (сунъий иммунитет ҳосил қилиш) орқали преципитацияловчи иммун зардоб олинган. Натижада қуён организмида специфик “антитаналар” – преципитинлар ҳосил бўлиб, ушбу антитаналар иммунизация учун қўлланилган оқсил антигени билан (мисол учун, одам оқсили) чўкма ҳосил қилган.

Суд-тиббий серологияда одам ва ҳайвонлар организмининг генетик бириктирилган структураларигина қўлланилади. Физиологик индивидуаллик замирида юзага келадиган индивидлараро ўзгарувчанлик ҳозирча суд-тиббий серологияда қўлланилмайди. Ваҳоланки, инсонлар организми кимёвий таркибининг кўплаб кўрсаткичлари шунчалик хилма хилликга эга-ки, бу махсус суд-тиббий мақсадларда, хусусан серологик усул ёрдамида ўрганилиши мумкин [62].

Аммо ушбу масалани ҳал этишнинг илмий ва амалий тартибларини ишлаб чиқишда қийинчиликлар кўлами улкандир. Аксинча, генетик аппарат бузилиши сабабли юзага келган патология суд-тиббий ишланмалар учун кўпроқ истиқболли саналади. Қондаги айрим патологик ҳолатлар, молекула хоссаларининг ўзгаришига (мисол учун, аномал гемоглобинлар) олиб келувчи ген мутацияларига боғлиқ бўлади. Бундан келиб чиқадики, генетик детерминацияланган структуралар яқин келажакда суд тиббиёти серологиясининг муҳим объектлари бўлиб қолади. Эҳтимол, мана шу хулосага мувофиқ суд-тиббий серологиянинг ривожланиш истиқболига ёндашиш зарур бўлади [53,62].

Маълумки, амалий иммунологиянинг муҳим вазифаларидан бири юқумли касалликларда зардоб профилактикаси ҳамда серотерапия усуллари ва воситаларини ишлаб чиқиш ҳисобланади. Масалан, одамларда у ёки бу юқумли касалликка нисбатан иммунитет ҳосил қилиш мақсадида, яъни ҳайвонларга дифтерия токсинининг юборилиши натижада уларда антитаналар (дифтерияга қарши моддалар) пайдо бўлади, ва бу моддалар дифтерия билан касалланган инсонларнинг соғайишига ёрдам берди.

Бундан ташқари, юқумли касалликларни ташҳислаш, криминалистика ва суд тиббиётига тегишли айрим масалалар, шунингдек айрим юқумли касалликлар эпидемиологияси ва эпизоотологиясини ўрганиш билан боғлиқ масалалар ечимини топишда иммунологик реакциялардан (агглютинация реакцияси, преципитация реакцияси, пробиркадаги ва гелдаги диффуз преципитация реакциялари, нейтрализация реакцияси, комплемент боғланиш реакцияси ва ҳоказолар) фойдаланилади. Специфик зардоблардан фойдаланиб ўтказиладиган серологик (иммунологик) реакциялар ёрдамида ажратиб олинган бактериялар ва вируслар дифференциацияланади [10, 22, 52, 68, 111].

Суд тиббиёти амалиётида қон доғлари экспертизасини ўтказишда филогенетик жиҳатдан яқин ҳайвонлар оқсилларининг тур мансублигини аниқлаш учун юқори сезгирлик ва спецификликка эга бўлган иммунологик усуллардан фойдаланилади. Мазкур усуллар преципитация реакциясида намоён бўладиган тур антигенлари ва антитаналарининг қатъий специфик ўзаро таъсирига асосланади. Бунинг учун ҳайвонни бирор бир турдаги оқсил билан иммунизациялаш натижасида олинган махсус дифференциацияловчи зардоблар қўлланилади [7, 14, 59].

Преципитация реакциялари қон мавжудлигини аниқламайди, балки ундаги оқсилларнинг тур спецификлигини аниқлаб беради, шу сабабли қон деб шубҳа қилинган ҳар бир доғда дастлаб унинг мавжудлиги, кейин эса тур мансублиги аниқланади. Шуни ёдда тутиш лозимки, тирик организм спецификлигини белгиловчи оқсиллар нафақат қонда, балки организмдаги барча тўқималар, аъзолар ва ажралмаларида ҳам сақланади. Шу сабабли оқсил турини аниқлаш реакцияси ёрдамида нафақат қон доғларининг қайси турга мансублигини, балки ҳар қандай ажралмалар доғларининг тур мансублигини аниқлаш мумкин.

Бугунги кунда биологик объектларнинг тур мансублигини аниқлашда преципитация, иммунодиффузия, ҳамда учрашиш иммуноэлектрофорез реакцияларидан кенг фойдаланилади. Ушбу реакциялар қон зардобининг 1:10000 нисбатда суюлтирилган эритмасида қон турини аниқлаш имконини беради [1, 3, 15, 20, 24, 25, 65, 66].

В.П.Ольховик (1967) ҳамда В.В.Томилин ва бошқалар (1988) биологик объектларнинг тур мансублигини аниқлаш учун ацетат целлюлоза пленкасида (АЦП) учрашиш иммуноэлектрофорез усулини таклиф этишди. Ушбу усул, сўнгги пайтларда суд тиббиёти амалиётида кенг қўлланилмоқда.

Хорижий давлатларда қон ва бошқа биологик объектлар тур мансублигини IgG бўйича аниқлашда иммунофермент таҳлил (ИФТ) усули ва иммунофлюо­ресценция реакциясидан (ИФР) фойдаланилади [26, 76, 77, 105, 116].

Маълумки, ИФРни учта вариантда ўтказиш мумкин: бевосита бўяш, билвосита бўяш ва комплементдан фойдаланиладиган билвосита усул ёрдамида. Препаратларни бўяшда одам, қуён, қўй ва б.қ. глобулинларига қарши маҳаллий стандарт турга қарши люменесцентловчи зардоблардан (ЛЗ) фойдаланилади. Мазкур зардоблар иммун зардобнинг лиофилизацияланган глобулинли фракцияси ҳисобланиб, флюорохром флюоресцеинизотиоцианат билан боғланган (конъюгирацияланган) бўлади.

ИФРнинг диагностик аҳамияти, кўплаб тадқиқотчилар фикрига кўра, тайёрланган цитологик препаратлар сифатига боғлиқ, чунки ҳужайраларнинг ҳаттоки сезилмас шикастланишлари ҳам уларнинг флюоресценцияси параметрларида ўзгаришлар келтириб чиқариши мумкин. Махсус адабиётларда санаб ўтилган кўп сонли методик усуллар сифатли цитологик препаратлар олиш имкониятини беради, ушбу препаратлар изоляцияланган ҳужайраларнинг тур дифференциациясини ўрганиш учун кам яроқли ҳисобланади [4, 76, 77].

Тўқима юзасида қон ёки сўлак намуналарини сақлаган препаратларда, ҳамда уларнинг юқори миқдорда суюлтирилган эритмалардаги специфик оқсилларини юқорида санаб ўтилган усулларнинг ҳар қайсиси ёрдамида, шунингдек, ИФР ёрдамида ҳам аниқлаш мумкин ва шубҳасиз, уларнинг люминесценцияси ҳужайраларнинг нурланиш манзарасини бузади ва яққол ифодаламайди.

ИФТ усули - оддийлиги, юқори сезгирлиги ва таъсирчанлиги ҳисобига барча рақобатлашадиган усулларга қараганда кўп қўлланиладиган усул ҳисобланади [30, 36, 56, 60, 116, 127]. Усул принципи қуйидагилардан иборат: белгиланган (бўялган) антитаналар ва текширилаётган зардоб иммобилизацияланган антигеннинг фиксацияланган миқдорига қўшилади. Тизимда мувозанат ўрнатилгандан кейин, эритмадаги ёки ташувчидаги нишон-фермент миқдори зардобдаги антитаналар концентрациясига пропорционал бўлади. Рақобатлашадиган усулларнинг асосий афзаллиги шундаки, улар минимал операцияларни, реагентларнинг кам сарфланишини талаб этади ва осон автоматлаштирилиши мумкин.

Оқсилларни идентификациялашнинг энг ишончли усулларидан бири полимераза занжир реакцияси (ПЗР) ҳисобланади. Ушбу усул ёрдамида биокимёвий структураси сақланган ҳар қандай тўқиманинг тур мансублигини генотип даражасида аниқлаш мумкин [41, 45, 120]. Усул асосида муайян биологик объект учун специфик саналадиган ДНК фрагментини детекциялаш ётади [119].

Қоннинг тур мансублигини аниқлашнинг суд-тиббий экспертизаси нафақат шахсга қарши жиноятларда, бундан ташқари ҳайвонот оламини қўриқлаш ва тиклаш, ундан оқилона фойдаланиш, давлат, кооператив ва шахсий мулк ҳисобланувчи ҳайвонларни ўғирлаш ва ноқонуний ўлдириш, чорвачилик, ов ва балиқчилик маҳсулотларини суиистеъмол қилиш, ҳайвонларни қийнаш билан боғлиқ жиноятларни очишда муҳим аҳамият касб этади.

 Бундай экспертизанинг энг кўп кузатиладиган объектлари - қон ва унинг таркибий маҳсулотларининг излари ҳисобланади. Мазкур объектлар ҳайвон турини янада ишончли аниқлашда ёрдам берувчи бошқа ашёвий далиллар (масалан, соч, тук, суяклар) билан уйғунлашадиган экспертизалар камдан кам учрайди. Шу билан бирга экспертиза ўтказиш тўғрисидаги қарорлар ва ажримларда қоннинг тур мансублигини аниқлашга оид саволлар, одатда, аниқ қўйилган бўлади.

Синф доирасида ҳайвон хусусиятларини ифодаловчи белгилар, уларнинг турини ташкил этувчи омилларнинг серологик реакцияларда аниқланадиган қон зардобларидаги хоссаларда ўз аксини топади. Муайян синфга мансуб турли ҳайвонларнинг қон изларини фарқлаш масаласи эксперт олдига камдан кам ҳолатларда қўйилади. Шу сабабли амалиёт учун синф доирасида, шунингдек янада йирикроқ таксономик бирликлар доирасида қонни дифференциациялаш имкониятлари муҳим аҳамиятга эга.

Ветеринария-санитария экспертизаси амалиётида гўшт ва гўшт ярим маҳсулотлари ёки гўшт хомашёсини фальсификациялаш ҳолатларида уларнинг тур мансублигини идентификациялаш зарурати тез-тез кузатилиб турилади. Аксарият фальсификациялар фойда олиш, гўштнинг сифатсизлигини ва унинг тур мансублигини яшириш мақсадлари билан боғлиқ бўлади. Гўштнинг сифатсизлик белгилари турли хил физик-кимёвий реакциялар билан осон аниқланади. Ветеринария-санитария экспертизаси амалиётида гўшт хомашёси турининг фальсификациясини аниқлаш анча мураккаб. Бу ноинсоф ишбилармон шахсларга бир турдаги ҳайвонларнинг қиммат гўштини бошқа ҳайвонларнинг арзон гўштига (қўй гўштини – эчки, ит гўштига, қуён гўштини - нутрия ёки мушук гўштига) алмаштириб қўйиш имконини беради.

Бундан ташқари, гўшт хом ашёси ва хилма хил компонентли гўшт маҳсулотларининг турини фалсификациялаш, алоҳида турдаги ҳайвонлар ва паррандалар гўштини истеъмол қилиниши таъқиқланган миллий ёки диний қарашларга эга истеъмолчиларга катта маънавий зарар етказади ва улар қўшимча лаборатория назоратини ўтказишни талаб этиб, бу ҳақда маълумот олишлари мумкин [39].

Гўштни идентификациялаш усуллари кўп бўлиб, улар органолеп­тик, иммунологик, гистологик текширувларни ва полимераза занжир реакциясини ўз ичига олади [29, 47, 56, 57]. Маълумки, гўштни баҳолашнинг визуал ва органолептик усуллари анча субъектив саналади ва комплекс текширувларни талаб этади. Анъанавий иммунологик тестлар термик ишлов берилган гўшт ва яқин турдаги ҳайвонлар гўштини фарқлашда қўлланиладиган усуллар кам самара беради. Юқори сезгирлиги ва спецификлиги, ишончли натижа бериши, тезкорлиги ва кам меҳнат талаб этиши сабабли ПЗР оқсил турини аниқлашда энг ишончли усуллардан бири саналади [56].

Қон изларининг тур мансублигини, гуруҳини ва бошқа белгиларини аниқлашда, экспертнинг тиббий-биологик йўналишдаги фаолиятида биология соҳасидаги билим элементларини ўзлаштириш талаб этилади. Бундай билимлар, биринчи навбатда, эксперт олдига қўйиладиган саволларнинг ечимини топишда, одатда доғлардаги қоннинг тур мансублигини аниқлашда ҳайвонот оламининг табиий-илмий систематикасини (ТИС) билишни талаб этади. Турдан ташқари ҳайвон ва ТИСдан ташқари ҳайвон тури мавжуд эмас. Эксперт-биолог ТИС асосларини билиши зарур, уларни мустақил тарзда оммабоп илмий қўлланмалардан, монография ва дарсликлардан ўзлаштириши ҳамда мазкур манбалардан қон изларининг таксономик мансублик экспертизаларида фойдаланиши мумкин.

Ҳайвонларнинг синфдаги жойлашуви ва уларнинг зардоб оқсиллари фракцияларининг антиген хусусиятлари орасидаги нисбатда билвосита боғлиқлик мавжуд. Антиген детерминантларининг эволюцион ўзгариши мазкур фракцияларда бир хил тезликда кечмайди. Ҳайвонларнинг турли гуруҳларида у ёки бу зардоб оқсилларининг антиген полиморфизмининг юзага келишида нотекис эволюцион тезлик қайд этилган. Таксономик жиҳатдан бир-биридан узоқ ҳайвонларнинг зардоб оқсиллари, баъзида таксономик яқин ҳайвонларга қараганда, ўхшаш антиген белгиларни намоён этади. Бундан ташқари, бир турга мансуб бўлмаган ҳайвонларнинг зардоблари умумий, гетероген антигенларга эга бўлади. Аммо, у ёки бу таксономик бирликдаги ҳайвонларнинг антиген сифатида ифодаланадиган зардоб оқсилларининг хусусиятлари амалиётда қон изларини дифференциациялаш имконини беради.

Суд тиббий эксперт иммунологик релятивизм (нисбийлик)га тааллуқли масалаларни тушуниш учун биологик билимларга эга бўлиши зарур. Унинг моҳияти, антитаналар ишлаб чиқарилишида, иммунизация қилинаётган ҳайвон ва зардоби антиген сифатида қўлланилаётган ҳайвоннинг ТИСдаги нисбий жойлашувига боғлиқликда ифодаланадиган иммунологик қонуниятдан иборат. Ҳайвонлар ТИСда ўзаро қанчалик йироқ жойлашса, ҳосил бўладиган антитаналар спектри кенг бўлади ва уларнинг титри ҳам юқори бўлади. Суд-тиббиётида фойдаланиладиган барча диагностик иммун зардоблар (қуён антигенига қарши зардоб бундан мустасно) қуёнларни иммунизация қилиш йўли билан олинади [9]. Эксперт ўз фаолиятида, сут эмизувчилар синфида муайян ўрин эгаллаган, яъни қуёндан таксономик жиҳатдан бир хил йироқликдаги ҳайвонлар ва одам қонидаги антигенларга нисбатан антитаналар мавжуд бўлган зардобларга эга бўлади. Бу диагностик иммун зардобларнинг хусусиятларида бевосита ўз аксини топади. Агар антитаналар продуциенти сифатида қуён эмас, бошқа бир сут эмизувчидан фойдаланилганда, диагностик иммун зардоблар тавсифи бошқача бўлар эди. Сут эмизувчиларнинг қон оқсиллари билан умумий антиген детерминантига эга бўлмаган паррандалардан преципитацияловчи иммун зардоблар олиш, диагностик жиҳатдан тенг қийматли зардоблар ишлаб чиқиш имкониятини беради. Иммунологик нисбийлик (релятивизм)нинг намоён бўлишини преципитацияловчи зардоблар ишлаб чиқаришда, уларни қўллашда ва олинган натижаларни изоҳлашда ҳам инобатга олиш зарур. Демак, иммунологик релятивизмнинг моддий асоси, унинг манбаи бўлган ҳайвонлар ўртасидаги ТИСда акс этган фарқлар ҳисобланади. Шу сабабли ТИС - қоннинг тур мансублиги экспертизасининг асоси саналади.

Эксперт томонидан натижаларнинг талқин қилиниши, уларни баҳолаш зарурий тиббий ва биологик маълумотлар йиғиндисини ҳисобга олиб амалга оширилади. Ашёвий далилларни текширишда олинган тажриба натижалари хулосаларнинг тўхтамларида ТИС орқали эксперт томонидан бевосита ифодаланса, яъни амалиёт ва назария элементларининг аниқ уйғунлашишига эришилса, қоннинг таксономик таълуқлилик экспертизаси тўлақонли бўлади. Айнан мана шу босқичда эксперт томонидан қон доғларини текшириш натижаларини қайси таксономик тоифа билан ўзаро боғлаш зарурлиги аниқланади: тур, хил, оила, гуруҳ ёки синф [54].

Суд тиббиёти адабиётларида кенг тарқалган “филогенетик яқин турдаги ҳайвонлар” атамасини қуйидагилар сабабли муваффақиятли деб ҳисоблаб бўлмайди. Суд-тиббий экспертлар суд мажлисида ҳайвон турларининг “филогенетик” яқинлиги ёки йироқлиги борасидаги ўз хулосаларини тўғрилигини исботлай оладиган ва оқлайдиган даражада биология соҳасида, хусусан эволюция борасида жуда чуқур билимларга эга бўлмайдилар. Бу махсус билимни талаб этади. Ҳайвонларнинг филогенетик яқинлиги эволюцион биологиянинг етарлича ўрганилмаган ва биологлар баҳс-мунозараларига сабаб бўлаётган мураккаб кўп омилли тушунчасидир. Муайян серологик реакциялар ҳайвонларнинг филогенетик боғлиқлигини исботлашнинг асосий усули бўлмай, балки қўшимча усуллардан бири саналади. Мазкур реакцияларнинг ўрганилиш даражаси жуда паст бўлиб, эксперт ўз меҳнат фаолиятида фақат ҳайвонларнинг филогенетик яқинлик даражаси ҳақидаги хулосаларни ўз ичига оладиган ТИСдан фойдаланиши мумкин.

 Суд тиббий экспертиза амалиётида “филогенетик яқин турлар” атамаси ўрнига “таксономик яқин турлар” атамасини қўллаш мақсадга мувофиқ саналади [54, 57].

**§ 1.2. Иммунизация ва турли антигенларга нисбатан**

**иммун зардоблар олиш аспектлари**

Аксарият иммунологик текшириш усуллари турли антигенлар билан иммунизацияланган ҳайвонлар қонидан олинадиган иммун зардоблар қўлланилишини кўзда тутади, бунда уларнинг титри фаоллиги текширув натижаларига сезиларли таъсир кўрсатади. Зардоблар олиш учун ҳайвонларни иммунизациялашнинг рационал схемасини танлаш зарур. Бунда, энг аввало, антигенларнинг физик-кимёвий ҳолати, антигенни юбориш дозаси, усули, интерваллар ва киритиш сони, иммунизация циклининг давомийлиги, адъювантлар ва иммуномодуляторларнинг қўлланилиши назарда тутилади. Антитана ҳосил бўлишининг ҳайвонга киритиладиган антиген дозаларига боғлиқлиги барчага маълум. Кичик дозалардаги антиген, одатда, етарлича иммун-ҳимоя таъсирни бермайди, катта дозаларда эса – антитаналар титрининг пасайишига олиб келувчи иммунизатор толиқишни келтириб чиқаради. Антигеннинг катта дозаси юборилганда, паст аффинитетга эга антитаналар ҳосил бўлади ва уларнинг синтези узоқ муддат мобайнида давом этади. Антиген дозасини камайтириб, юқори аффин антитаналар ҳосил бўлишини кузатиш мумкин.

Антитана ҳосил бўлишининг антиген киритилиши каррасига боғлиқлигини ўрганиш натижалари, бир марталикдан кўра кўп марталик иммунизация шубҳасиз афзалликка эгалигидан далолат беради. Иммунизация мақсадида қилинадиган инъекциялар ўртасидаги интерваллар эмпирик йўл билан танланади, бунда тажрибалар натижалари, одатда, конкрет препаратга нисбатан қўлланилиши мумкин.

Иммунизация ёки вакцинациялаш муайян патогенга қарши ҳотира ҳужайраларини яратиш орқали патогенга специфик адаптив иммунитет пайдо қилади. Ҳар қандай вакцина патогеннинг специфик антиген қисмидан иборат бўлади, ушбу патоген Т- ва В-лимфоцитларининг иммун жавобини ҳамда хотира ҳужайраларининг ишлаб чиқарилишини юзага келтиради [92].

Айрим патоген микроорганизмларга қарши вакциналарни муваффақиятли ишлаб чиқиш, эҳтимол, Th1 ҳужайравий иммунитет ишончли равишда Th2 гуморал жавобдан иборат кенгайтирилган иммун жавобни ўз ичига олади.

Антитаналар олиш учун Th2 кучли иммун жавоб афзалроқ бўлиб, поствакцинал иммун жавобнинг сифати ёки антитаналар ишлаб чиқарилиш даражаси бир нечта омилга боғлиқ бўлади, жумладан вакцина киритиш усули, сони ва вақти, антиген табиати ва антиген презентациясининг сифатига ҳам боғлиқ бўлади. Инъекция жойидан антигеннинг тарқалиш тезлиги ва унинг лимфа тугунлари ҳамда иммун тизимнинг бошқа органларидан ўтиш эҳтимоллиги, самарадорликнинг асосий сабаблари ҳисобланади [6, 22, 35, 38].

Ҳайвонларни иммунизациялашнинг кўплаб турли усуллари таклиф этилган. Ҳозирги вақтга қадар М.И.Райский (1961) томондан таклиф этилган усул кенг тарқалган саналади. Аммо тадқиқотлар натижалари шуни кўрсатдики, такрорий иммунизация кам сонли ҳайвонлардагина юқори титрга эга преципитинларни ишлаб чиқарилишини юзага келтиради. Паст реактивликка эга ҳайвонлар учун ушбу усул кам самара беради ва шу сабабли оддий ревакцинациядан кўра янада кучлироқ қўзғатувчи агент зарур бўлади. Ретикулоэндотелиал тизимнинг антитана ҳосил қилиш функциясини фаоллаштириш усули кўпгина адабиётларда кенг баён қилинган. Муаллифлар цитотоксик антиретикулоэндотелиал зардобни, ҳаттоки кичик дозаларда ҳам парэнтерал юбориш антитаналар титрининг ортишига олиб келишини аниқлашди. Аммо ушбу усулдан суд-тиббиёти амалиётида юқори титрга эга преципитацияловчи иммун зардобларни олишда фойдаланиб бўлмайди, чунки цитотоксик зардобнинг ўзи антиген хусусиятга эга бўлиб, бунинг натижасида носпецифик преципитинлар ҳосил бўлишига олиб келиши мумкин [11, 12, 16, 17, 63].

 Т.Чард (1976) фикрича, ягона ва якуний самарали мақсадга турли усуллар билан эришиш мумкин, аммо ҳар қандай ҳолатда ҳам ишлаб чиқариш учун таклиф этилган иммунизация схемаси, муайян талабларга мос келиши лозим, бу талабларнинг энг асосийси – антиген ва бошқа материалларни кам миқдорда сарф қилган ҳолда, қисқа муддат ичида юқори титрли специфик антитанали зардобларни олиш имкониятига эга бўлиши ҳисобланади [39, 121, 128].

Бугунги кунда иммунизация юқумли касалликларни олдини олишнинг энг самарали воситаси ва тиббиётнинг энг муҳим ютуғи ҳисобланади. XXI асрда янги вакциналар, шу жумладан тирик векторлар, ДНК-вакциналар, рекомбинант вакциналар ва уларни ишлаб чиқариш технологиялари пайдо бўлди [49].

Дунёда қатор зарарли кимёвий бирикмалардан: канцерогенлар, мутагенлар, тератогенлар ва дорилардан (дозировкаси ортиб кетган ҳолатларда) иммунологик ҳимояланиш ишлаб чиқилмоқда. Наркология соҳасида наркотиклардан заҳарланишларни специфик антитаналар киритиб даволаш имкониятларини ўрганиш, шунингдек специфик антитаналарни вакцинациялаш орқали наркотикларга тобеликни олдини олиш ва даволаш бўйича ишлар олиб борилмоқда [23].

Микроб антигенларини аниқлашнинг дастлабки босқичларида туғма ва адаптив иммун жавобнинг шаклланиши жараёнидаги сигнал ўтказиш йўлларини фаоллашиши, уларни макроорганизмга киритиш усулларига боғлиқ бўлиб, ушбу усуллар микроорганизмлар лигандалари билан ўзаро таъсирга эга ва ҳимоя реакциялари комплексини пайдо бўлишини келтириб чиқарувчи рецепторлар тўпламини белгилаб беради [123, 124]. Преципитацияловчи диагностик иммун зардоблар саноат масштабларида куйдирги, бруцеллёз, оқсим, қутуриш, лейкоз, инфекцион анемия ва бошқаларни ташхислаш учун тайёрланади.

Культурал антирабик вакциналарнинг олиниши вакциналар ишлаб чиқарилишида мутлоқ янги босқич ва янада илгарилаш бўлди, бунга ҳужайралар культурасида in vitro вирусни ўстириш методикасини ишлаб чиқишда қўлга киритилган муваффақиятлар ёрдам берди. Дастлабки культурал вакциналар ўтган асрнинг 60-йиллари охирида олинган ва ҳозирги кунга қадар дунё бўйича қутуришни олдини олишда муваффақият билан қўлланилмоқда [Абрамова].

Б.С. Сенченко ва Н.Н. Гугушвили (2000) турга мансубликни аниқлаш учун преципитацияловчи зардобларни олишда қуёнга 0,3 мл янги олинган қонни тери остига юборишди ва 5 кундан кейин шу қуёнга яна 0,5 мл қон юборилди, кейин худди шу тарзда 0,7 ва 0,9 мл қон юборилди. Охирги тери ости инъекцияси ўтказилганидан 5 кундан кейин сон соҳаси мушак орасига 1 мл янги қон юборилди ва кейинги учта инъекция 1,5 мл дан мушак орасига 5 кун интервал билан юборилди. Преципитация реакцияси учун қўлланиладиган антизардоблар спецификликга эга бўлди, яъни қон ёрдамида гипериммунизация амалга оширилган ҳайвон тури зардоби билангина преципитат ҳосил қилинди.

Т.Ю. Переварюха (2010) антизардоблар олиш учун иммунизацияни 10-12 кунлик интерваллар билан ҳайвоннинг қорин бўшлиғига антигенни 4 марта тери остига инъекция қилиб киритган. Фрейнд адъюванти билан 1:1 нисбатдаги зардоб эмульсиясининг ортиб борувчи дозаларини 1 млдан бошлаб ва асосий циклнинг охиригача 3 млга етказиб киритди. 1-1,5 ойдан кейин 3 мл эмульсия тўлиқсиз адъювант билан тери остига қайта иммунизация қилинди.

Ҳозирги вақтда мукозал иммунитет шаклланишига жалб қилинадиган молекуляр-ҳужайравий механизмлар ҳақида маълумотлар мавжуд, чунки 90%га яқин патоген организмга шиллиқ қаватлар орқали киради. Сўнгги йилларда ўтказилган назарий ва экспериментал тадқиқотларда мукозал иммун тизимнинг функционал фаоллик хусусиятларини таъминловчи муҳим компонентлар – шиллиқ қаватлар эпителийсини эгаллаган Тγƃ ва В1-лимфоцитлар ҳисобланади. Мукозал иммунитетни амалга ошириш жараёнида, унинг таянч эффекторлари билан бир қаторда, бошқа иммункомпетент ҳужайралар ҳам муҳим аҳамият касб этади, бу ҳужайраларнинг Тγƃ ва В1-лимфоцитлар билан ўзаро таъсири иммун тизимнинг фаоллашувини ва патоген антигенларга нафақат маҳаллий, балки тизимли умумий иммунитетнинг ривожланишини таъминлайди [93, 94, 109, 115, 124, 126].

Иммун зардоблар олишда, уларнинг спецификлигини ошириш учун гетерологик антигенлар билан реакцияга киришувчи антитаналар сорбциясини ўтказиш зарур. Тажрибалар шуни кўрсатадики, иммун зардоблар ишлаб чиқариш саноатида кенг қўлланиладиган зардобларнинг микрон ҳужайралар билан заифлашуви, антитаналарнинг специфик титрларини пасайтиради ва кўпинча хомашёнинг тўлиқ яроқсизлигига олиб келади. Гетерологик микроорганизмлардан ташкил топган сувда эрийдиган антигенлар асосидаги қаттиқ фазали полиакриламид сорбентларнинг қўлланилиши, зардоблар спецификлигининг ошишига олиб келади, бунда антитаналар титри бироз пасаяди [95, 100, 105].

**§ 1.3. Замонавий иммунологияда адъювантлар ўрни**

Сўнгги ўн йилликда кўплаб иммуномодулятор препаратлар ишлаб чиқарилди ва клиник баҳоланди. Инфекцион ва ўсма касалликларни даволашда улардан фойдаланиш кўп жиҳатдан стандарт муолажага айланди. Тадқиқотлар шуни кўрсатдики, самарали иммуномодуляторлар ва адъювантлар бўлиб, улар кимёвий синтез усулида олинган моддалар ҳисобланади. Бундай препаратлар маълум таркибий қисм ва тузилишга эга бўлиб, оқибатда, антиген структуранинг қайта тузилиши ва минимал миқдорга эга бўлишини таъминлайди [13, 43].

Адъювантлар (лат. adjuvantis – ёрдам берувчи, кўмаклашувчи) – турли хил кимёвий табиатга эга бўлган ва келиб чиқиши турлича бўлган қўшимча омиллар, специфик антигенлар билан бирга қўлланганда иммун жавобга носпецифик стимулловчи таъсир кўрсатувчи, ёки бошқача айтганда, вакциналарнинг иммуногенетик таъсирини оширувчи моддалардир [34, 69, 92, 95].

Ҳозирги вақтда адъювант таъсир хусусиятга эга бўлган ўнлаб органик ва анорганик табиатли моддалар маълум [31, 37, 69, 72].

Адъювантлар сифатида минерал бирикмалар (алюминийнинг гидроксид ва фосфат геллари), полимер моддалар, мураккаб кимёвий аралашмалар (липополисахаридлар, оқсил-липополи­сахарид комплекслар, мурамилдипептид ва унинг ҳосилалари ва бошқалар), бактериялар ва бактериялар компонентлари (БЦЖ вакцинаси ажралмаси), липидлар ва эмульгато­рлар (ланолин, арлацел), яллиғланиш реакциясини чақирувчи моддалар (сапонин, скипидар) ва бошқалар қўлланилади [2, 69, 72].

Кўриниб турганидек, адъювантлар турли хил кимёвий таркибга ва турли келиб чиқиш табиатига эга бўлиб, уларнинг ўхшашлиги шундаки, барчаси организм учун ёт модда бўлган ҳолда антигеннинг иммуногенлигини ошириш, иммуногенга гуморал жавоб даражасини ўзгартириш хусусиятига эга ҳисобланади.

Бугунги кунда адъювантларнинг ягона таснифи мавжуд эмас. Уларнинг келиб чиқиш табиати, таъсир механизми ва физик-кимёвий хоссаларига кўра фарқланиши мумкин. Ушбу таснифга кўра, адъювантлар уч гуруҳда намоён бўлади: (I) фаол иммуностимуляторлар вазифасини бажарувчи моддалар, киритилган антигенга организмнинг иммун жавобини оширади; (II) иммуноген оқсиллар, ташувчи бўлиб хизмат қилади ва Т-ҳужайравий жавобни чақиради, (III) транспорт вазифасини бажарувчи адъювантлар (ёғлар, липосомалар), антигенлар учун матрица ҳисобланади, улар ҳам иммун жавобни стимуллайди [70, 112].

Бошқа тасниф, ёрдамчи моддаларни минерал қўшимчалар, алюминий тузлари ва шунга ўхшашларга, бактерия ҳосилалари, юза-фаол моддалар, транспорт воситалари ва материалар ёки цитокинларни янада секин ажралишига кўмаклашувчи моддаларга ажратади [31, 34, 48, 74].

Муаллифлар адъювантларни қуйидаги гуруҳларга ажратувчи тасниф тизимини таклиф қилишади: асоси гел бўлган адъювантлар, юза-фаол моддалар, бактериал маҳсулотлар, ёғ эмульсиялари, оқсиллар ёки липопептидлар [34, 90].

Шунингдек, турли антигенларга адъювант таъсир кўрсатиш хусусиятига эга кўплаб моддалар ҳам маълум. Адъювантлар сифатида ўлдирилган микроорганизмлар (микобактериялар, коринебактериялар, нокардиялар ва б.қ.), органик моддалар (бактериал полиса­харидлар ва липополисахаридлар, лецитин, холестерин, ланолин, агар, глицерин, желатин, крахмал, пектинлар, протаминлар ва б.қ.), анорганик моддалар (алюминий гид­роксиди, алюминий фосфати, каль­ций хлориди, кальций фосфати, темир гидроксиди, аммоний кальцийли аччиқтош, минерал ёғлар ва б.қ.), синтетик моддалардан (нуклеотидлар, полианионлар ва ҳ.к.) фойдаланиш мумкин. Оддий адъювантлардан ташқари, липиднинг минерал сорбент билан бирикмаси, ёғларнинг липосахаридлар ва эмульгаторлар билан, микроорганизмларнинг ёғлар ва бошқа моддалар билан бирикмасидан иборат бўлган мураккаб адъювантлардан ҳам фойдаланилади. Мураккаб адъювантлардан Фрейнд адъюванти кўпроқ машҳур.

 Адъювантлар антигенга таъсир этгани каби – антиген хусусиятларини ўзгартириш орқали организмга ҳам иммун тизим функциясини стимулловчи таъсир кўрсатади [34, 48, 69].

Адъювантлар таъсири остида антиген структураси, унинг молекуляр массаси, полимерлиги, эрувчанлиги ва бошқа физик-кимёвий хусусиятлари ўзгаради. Адъювантнинг антигенга таъсири унинг молекуласининг йириклашуви ҳисобига (сорбция, полимер ташувчи билан кимёвий боғланиши) эриган антигенларни корпускулярларга айланишидан иборат. Натижада антиген янада яхши қамраб олинади ва фагоцитловчи ҳамда бошқа иммун компетент ҳужайралар томонидан фаолроқ намоён бўлади, яъни тимусга тобе антигендан тимусга тобе бўлмаган антигенга айланади. Бундан ташқари, адъювантлар инъекция жойида яллиғланиш реакциясини келтириб чиқаради ва узоқ муддат мавжуд бўлиши мумкин бўлган фиброз капсула, гранулемасини ҳосил қилади. Натижада антиген узоқ муддат сақланади, инъекция жойида йиғилади “деполанади” ва секинлик билан “депо”дан чиқарилади. Антигенларнинг узоқ муддат таъсир этиши иммун жавобнинг янада яққолроқ ифодалананишига ва янада узоқроқ иммун хотирани яратишга сабаб бўлади. Бунда, ушбу вақт давомида антигеннинг ўзидаги барқарорлик муҳим аҳамият касб этади.

Адъювантларнинг иккинчи асосий таъсир механизми, носпецифик иммуностимулятор таъсирига асосланади. Бу организм ҳужайралари томонидан тегишли цитокинлар ишлаб чиқарилишининг, ўзаро таъсир молекулалари экспрессиясининг ортишидан иборат бўлади. Адъювантлар лимфатик тугунлар реакциясини кучайтиради, комплемент тизимини фаоллаштиради, Т- ва В-ҳужайралар пролиферацияси, дифференцировкаси ва функционал фаоллигини, цитокинлар ҳосил бўлшини стимуллайди, организмнинг ҳимоя оқсиллари синтезини кучайтиради [34, 79, 95, 102, 103, 107, 113].

 Адъювантлар соғлом организмда иммун жавобни кучайтиришда, вакцинацияда ва ҳайвонларни иммунизациялаш учун лаборатория амалиётида фойдаланилади. Ҳар қандай адъювантнинг энг муҳим жиҳати шундаки, ушбу моддалар антиген билан бирга киритилганда янада давомли ва кучли иммунитет ҳосил қилади, вакцина токсиклигини пасайтиради ва вакцинация ўтказилган организмда антигенлар депосини яратади. Юқори самарали янги адъювантларни излаб топиш ва тадбиқ этиш ревакцинациялар сонини қисқартириш, организмга антиген юкламасини камайтириш, вакцинация жараёнининг ўзини сезиларли осонлаштириш ва арзонлаштириш имконини беради [71, 78, 80, 89, 108].

Бошқа бир тасниф бўйича, адъювантлар, иккита гуруҳга бўлинади: етказиб берувчи воситалар ва айрим умумий компонентли иммуностимуляторлар. Етказиб берувчи воситалар – одатда, заррачалар (минерал тузлар, мисол учун, алюминий гидроксиди, эмульсиялар, липосомалар) ҳисобланади. Улар ҳужайраларга танланган антигенларни ташийди ва кўплаб нусхаларда “кўрсатади”, микроорганизмлар билан табиий презентацияни имитациялайди ва антиген киритилган жойда унинг чўкмасини ҳосил қилиш ёки антиген намоён қилувчи ҳужайраларга (АРС) етказиб берилишини кучайтиришда қўлланилади [34, 80]. Бунга қарама-қарши равишда, иммуностимуляторлар (TLR агонистлари, сапонинлар, цитокинлар ва б.қ.) бевосита иммун тизим ҳужайраларини танийди ва фаоллаштиради ҳамда антигенларга қарши иммун жавобни кучайтиради. Адъювантларнинг мазкур гуруҳида туғма иммун тизим патогенини таниш рецепторларига (ПТР) йўналтирилган моддалар сўнгги ўн йил ичида сезиларли эътиборга эга бўлди.

Алюминий асосидаги адъювантлар кенг тарқалган адъювант саналади ва юқори хавфсизлиги ҳамда ҳимоявий гуморал иммун жавобни кучайтириш хусусиятига эга бўлганлиги боис тасдиқланган профилактик вакциналарда қўлланилади. Ҳозирги кунда алюминий бирикмалари, бошқа кўплаб адъювантлар каби иммун тизим ҳужайраларини тўғридан тўғри фаоллаштириш орқали таъсир этиши тан олинган.

Алюминий энг кўп ишлатиладиган вакцина адъюванти ҳисобланади ва яқин кунларгача АҚШда фойдаланиш учун лицензияга эга ягона адъювант бўлган [81, 87, 85, 103]. Ушбу адъювант бўлмаганда, аксарият вакциналарнинг (тирик заифлашган вакциналардан ташқари) антиген компонентлари адекват иммун жавоб беришга қодир бўлмайди [24, 35]. Ҳайратланарли жиҳати шундаки, алюминий адъювантлари деярли 90 йил давомида кенг қўлланилсада, уларнинг таъсир этиш механизми етарлича тўлиқ тушунарли эмас. Бундан ташқари, кўп сонли тадқиқотларда алюминий адъювантларидан фойдаланиш одамларда жиддий аутоиммун оқибатларни келтириб чиқариши мумкинлиги аниқланган [86, 87, 88, 103].

Жаҳон лабораторияларида ўрганилаётган адъювантлар сонининг экспоненциал ўсишига қарамасдан, одамларда фойдаланиш учун саноқли адъювантларга рухсат этилган. Адъювантнинг самараси таққосланганда фақат алюминий гидроксиди Фрейнд тўлиқ адъюванти каби G гуруҳига мансуб юқори аффин антигенспецифик иммуноглобулинлар ишлаб чиқарилишини стимуллаши аниқланган [98, 99, 106].

Алоҳида қайд этиш лозимки, Фрейнд адъюванти ва алюминий гидроксидини организмга юбориш фонида қизиқарли қонуният аниқланган. Ўрганилган кўрсаткичларнинг аксарияти бўйича рекомбинант полипептидлар аралашмасининг қўлланилишида монопрепаратлар билан иммунизациялашга қараганда иммун жавобнинг кучайиши кузатилди. Шундай қилиб, овальбуминга нисбатан ИЛ-1βнинг адъювант самараси Фрейнд адъюванти ва алюминий гидроксидига қараганда паст бўлди.

В.Я.Карякин (1950) ҳайвонларга катта миқдорда темир сахаратининг олдиндан киритилиши билан қайта иммунизациялаш самара беришини қайд этган. Аммо муаллиф томонидан қўлланилган миқдор қуёнларга ёмон таъсир этган. Уларнинг бир қисми қўзғатувчи киритилиши билан нобуд бўлган.

Вакцинадан сўнг иммун жавоб сифати ёки антитаналар ишлаб чиқарилиш даражаси бир неча омилларга боғлиқ бўлади, шу жумладан вакцина киритиш усули, сони, вақти, антиген табиати ва антиген презентация сифатига ҳам боғлиқ бўлади. Бу жараён адъювантлар билан енгиллаштирилади. Дарҳақиқат, адъювантлар аксарият оқсиллар, пептидлар ва ДНК-вакциналарининг (табиий иммун триггерларга эга бўлмаган) кучсиз иммуноген хоссаларини енгиш ёки ноадекват иммун жавобни пайдо қилиш имконини беради. Адъювантлар Th1/Th2 балансини модуляциялаш ҳисобига иммун жавобни йўналтиришда [98, 111] ва ҳимоя индукцияси учун зарур бўлган инъекциялар ва антигенлар сонини камайтириш учун қўлланилиши мумкин [91, 107, 113, 115].

Жаҳон адабиётида формальдегиднинг тимидин, пурин ва бошқа кислоталар синтезида қўлланиладиган одам организмининг табиий компоненти эканлиги, жигарда микросомал диметилаза таъсирида, метан ва метилметакрилатнинг дигалоид ҳосилалари биотрансформациясида ҳосил бўлиши ҳақида маълумотлар мавжуд [46, 82]. Жигарда содир бўладиган қатор ферментатив жараёнлар орқали қонга тушиб чумоли кислотасигача оксидланади, бир вақтнинг ўзида жигарда метил спирти ҳосил бўлади (дисмутация реакцияси). Кейин чумоли кислотаси формиатдегидрогеназа таъсирида СО2 га метаболизацияланади ёки бир углеродли қолдиқлар ўрнига тетрагидрофолат кислотаси тизимига жалб этилади. Формальдегид оқсиллар, аминлар, нуклеопротеидлар, нуклеин кислоталар билан осон реакцияга киришади. Формальдегиднинг биотрансформацияга учрамайдиган қисми аъзо ва тўқималарга тез сўрилади [82, 88, 96, 97].

Формальдегид сурункали таъсир этилганда иммун тизимнинг антиген стимуляциясини, ушбу бирикмага (IgM, IgG, IgE) антитаналарнинг ҳосил бўлиши, Т-ҳужайра хотираси миқдорининг ортишини келтириб чиқаради [115].

Биологик материални ацетон, этанол, нейтрал формалин ва кальций хлоридни қўшиб фиксацияланишини таққослаш ҳар хил натижаларни берди. Турли антигенлар ушбу фиксаторлардан кейин яхши аниқланган, аммо айрим муаллифлар фикрига кўра [78, 111], нейтрал формалин қўлланилганда иммуногистохимия ёрдамида текширилган аксарият антигенлар яхшироқ аниқланган. Аксинча, бошқа тадқиқотларда [76, 108] барча текширилаётган фиксаторларга қараганда, формалинли фиксациядан кейин антигенларнинг ёмон аниқланиши қайд этилган. Айниқса, нейтрал формалинда узоқ муддат фиксациялашдан кейин эпитопларнинг аниқланиши жуда ёмонлашган [89, 139].

Шундай қилиб, специфик зардобларнинг миқдорий ва сифат кўрсаткичлари кўп жиҳатдан антигеннинг иммуногенлиги, ҳайвон продуцентининг тури ва индивидуал тавсифи, қўлланилган иммунизация схемаси самарадорлиги ва адъювантнинг тўғри танланишига боғлиқ. Аммо ушбу омилларнинг кутилган мутаносиблигига эришишга иммун жавобнинг барча хусусиятларини адекват такрорлайдиган, турли тасодифий омиллар таъсирига учрайдиган моделнинг мавжуд эмаслиги тўсқинлик қилади. Хусусан, специфик зардоблар продуциентларининг сақланиш шароитлари деярли ҳисобга олинмайди ва айрим ҳолатларда аҳамиятлилиги аниқ баҳоланмайди. Одатда, қайд этилган масалалар бўйича далилий материалларга тегишлича статистик баҳо берилмайди ва тахминлар доирасида, ҳаттоки аниқ бўлган ҳолатларда ҳам эҳтимоллиги қолмоқда.

**II БОБ.**

**ОҚСИЛНИНГ ТУР МАНСУБЛИГИНИ АНИҚЛАШ ВА ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ИММУН ЗАРДОБЛАР ОЛИШНИНГ МЕТОДОЛОГИК ТАВСИФИ ВА ҲАЙВОНЛАР ИММУНИЗАЦИЯСИ**

**§ 2.1. Материалларнинг умумий тавсифи**

Республика суд-тиббий экспертиза илмий амалий марказининг Тошкент вилоят филиалидаги 2014-2018 йй. экспертиза материалларидаги қон доғлари топилган объектларда (мавжудлиги аниқлангандан кейин) қоннинг тур мансублиги преципитация реакцияси усуллари ёрдамида аниқланганлиги таҳлил қилинди. Шу мақсадда ўтказилган суд-тиббий экспертиза хулосалари ва далолатномалари ўрганилди. Манфий натижалар кўрсаткичи йиллар кесимида, фасллар, яъни ҳарорат омили билан боғлиқлиги ўрганилди, аниқланганлик самарадорлиги (фоизларда) белгиланди.

Мазкур бобда, шунингдек суд-тиббиётида қўллаш мақсадида одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи диагностик иммун зардобларни олиш методикаси баён этилган. Ушбу тадқиқот ишида қуёнларни иммунизациялаш ҳамда одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи юқори титрга (1:10000) эга иммун зардобларни олиш методикасини ишлаб чиқиш режалаштирилган. Бундай зарурат бугунги кунга қадар преципитацияловчи иммун зардобларни Россия Федерациясидан валюта ҳисобига сотиб олинаётганлиги сабабли юзага келди.

Қўйилган мақсадга эришиш учун одам ва ҳайвон қон зардоблари ҳамда формалиннинг 1%, 5% ва 10%ли эритмаларининг аралашмаси билан қуёнларни иммунизациялаш ўтказилди. Қуёнлар иммунизацияси Л.И.Ломовицкая томонидан таклиф этилган (1977), Д.Д.Джалалов ва Р.А.Хасанов (1997) томонидан модификацияланган схема бўйича амалга оширилди.

Тажрибаларда вазни 3-3,5 кг бўлган Шиншилла (2.1-расм) ва Великан (2.2-расм) зотли иккала жинсдаги 192 дона қуёндан фойдаланилди. Қуёнлар “Экспериментал ва иммунологик тадқиқотларда лаборатория жониворлари билан ишлаш қоидалари ва усуллари” услубий қўлланма талабларига мувофиқ стандарт шароитларда сақланди. Қуёнлар боқилган қафас катакларига тўшама сифатида дарахтларнинг игнабаргли бўлмаган турларининг қипиқларидан фойдаланилди. Қуёнларга омухта ем ва серсув озуқа маҳсулотлари бериб борилди. Озуқанинг таркиби ва сифати ҳақидаги маълумотлар лаборатория ҳужжатларида қайд этиб борилди. Қуёнларга тозаланган сув берилди. Қуёнлар атроф муҳитнинг назорат қилинадиган шароитларида сақланди (20-22°С ҳароратда ва ҳавонинг нисбий намлиги 50-70%). Тажриба ҳайвонлари сақланган хоналар 12-14 соат ёруғлик билан таъминланди. Ҳарорат ва ҳаво намлиги ҳар куни қайд этиб борилди. Акклиматизация даврида ва эксперимент жараёнида параметрларда ҳеч қандай четга оғишишлар кузатилмади. Жониворлар ҳар куни клиник кўрикдан ўтказилди. Қуёнларни сақлаш катаклари синчковлик билан кўрикдан ўтказиб борилди. Қуёнларнинг умумий ҳолати қайд этилди: ўзини тутиши, ҳаракатланиш фаоллиги, характери, жадаллиги, талваса мавжудлиги ва характери; ҳаракатлар координацияси, скелет мушаклари тонуси; нафас ҳаракатлари частотаси; чуқурлиги; тукланиши, тери қоплами ҳолати, нажас массалари консистенцияси ва сони. Қуёнларни иммунизациялашда антиген сифатида (2.3-расм) одам қони зардоби (1-гуруҳ), шохли ҳайвон (2-гуруҳ), қуш (товуқ) (3-гуруҳ), от (4-гуруҳ) қон зардобларининг формалиннинг 1%, 5% ва 10%ли эритмалари билан 1:1 нисбатдаги аралашмаларидан фойдаланилди. Ушбу тайёрланган антигенлар 4-6°С ҳароратда 72 соат мобайнида сақланди. Назорат сифатида ҳар бир гуруҳга 2 тадан қуён(жами 32 та қуён) иммунизация учун тегишли турдаги зардоблар ва 0,9%ли физиологик эритма билан аралашмадан тайёрланган антиген орқали амалга оширилди (5-гуруҳ).

 2.1-расм 2.2-расм

2.3-расм

Антиген қуён қулоғининг чекка венасига уч марта кун оралатиб, қуён тана массасига 1 мл/кг ҳажмда юборилди. Иммунизация қилинган қуёнлардан қон намунаси охирги инъекциядан сўнг 4-, 7- ва 9- кунлари олинди. Қуёнлар қон зардобида перципитинлар титри 1:5000 ва 1:10000 га тенг бўлганида, қуёнларнинг юрак бўшлиғи пункцияси қилиниб ва декапитация усули билан қонсизлантирилди. Агарда, иммунизациядан сўнг преципитацияловчи иммун зардобларнинг титри ишчи титрга (1:5000, 1:10000) етмаган ҳолатларда, охирги иммунизациядан сўнг 2 ҳафта ўтиб бир марталик антиген юбориш орқали реиммунизация ўтказилди.

**Қон олиш ва зардоб ажратиб олиш.** Қон олиш қуёнларни юрак бўшлиғини пункция қилиш ва декапитация қилиш йўли билан амалга оширилди (қон олиш муолажасидан олдин инъекция соҳаси тозаланиб, спирт билан ишлов берилди). Қон термостатга 37°С ҳароратда 1 соатга қўйилди (зардоб ажратиб олиш учун). Сўнгра 10 дақиқа давомида 3000 айл/дақ центрифугалаш ёрдамида зардоб ажратилди. Ажратиб олинган зардоблар 3 мг/1мл нисбатдаги борат кислотасининг 3%ли аралашмаси билан консервацияланди ва 20°С ҳароратда сақланди.

**§ 2.2. Иммун зардобларнинг титри ва спецефиклигини**

**иммунологик усуллар ёрдамида аниқлаш**

**2.2.1. Чистович-Уленгут преципитация реакцияси ёрдамида оқсил турини аниқлаш.**

Преципитацияловчи иммун зардобларнинг титрини текшириш учун уни муайян турдаги оқсил (антиген)нинг турли эритмалари билан ўзаро суюқ муҳитдаги преципитация реакцияси ўтказилди.

Одам, қуш, шохли ҳайвон ва от қон зардоблари (антигенлари) 0,9% ли физиологик эритмада 1:100, 1:1000, 1:5000, 1:10000 нисбатларда суюлтирилди (титрланди).

Антиген эритмалари стерил пробиркаларда тайёрланди, тегишли ёзувлар билан белгиланди, мисол учун: одам антигени суюлтирилганда, пробиркалардаги антиген аралашмаси ва антиген номига мос келадиган ҳарф қайд этилади. Қисқа қилиб эритмалар қуйидагича белгиланди: эритма 1**:**100 –100, 1:1000 - 1, 1:5000 - 5, 1:10000 -10. Ҳар бир антиген тури бўйича титрланган пробиркалар қуйидаги ҳарфлар билан белгиланди: одам - (О), шохли ҳайвон - (Ш.Ҳ.), от - (от), қуш - (Қ). Шундай қилиб антигеннинг 4 тури суюлтирилган эритмаси тайёрланди ва ушбу антигенлар билан мос преципитацияловчи зардобнинг титри текширилди.

Антигенларни титрлаш қуйидагича амалга оширилди: 10 мл ҳажмдаги градацияланган (даражаланган) пипетка ёрдамида кимёвий пробиркаларга физиологик эритма қуйиб чиқилди: 100 ёзилган 1-пробиркага - 9,9 мл; 1 ёзилган 2-пробиркага - 9,0 мл; 5 ёзилган 3-пробиркага - 4,0 мл; 10 ёзилган 4- пробиркага - 9,0 мл. Антиген 1 мл ҳажмдаги пипетка билан томизилади: 1-пробиркага - 0,1 мл, яхшилаб аралаштирилгандан кейин, ушбу пробиркадан 1 мл олиб 2-пробиркага қуйилади, бу пробиркадаги антиген аралашмаси ҳам яхшилаб аралаштирилиб, 1 млдан (эритилган антиген) 3- ва 4-пробиркаларга қуйилади (2.4-расм ва 2.5-расм).

Яхшилаб аралаштирилгандан кейин антиген эритмалари кимёвий пробиркадан бошқаларига ўтказилади, юқори миқдорда суюлтирилган эритмадан бошлаб кам миқдордаги эритмага (эритмаларнинг кучайишини олдини олиш мақсадида) қараб, кимёвий пробиркалардан преципитацион пробиркаларга қуйидаги тартибда кўчириб ўтказилади: 1:10000; 1:5000; 1:1000 (2.6-расм). Ҳар бир турдаги антигенлар учун 4 донадан преципитацион пробиркалар олиниб, ушбу пробиркаларга антигеннинг ишчи эритмаларига мос ёзувлар билан белгиланди. Реакцияга киритилган преципитацияловчи зардоблар турига мос равишда 1:1000, 1:5000, 1:10000 титргача суюлтирилган антиген сақловчи пробиркаларнинг 3 ва 4 қатори тизилгандан кейин синалаётган зардоблар капиллярлар ёрдамида қўшиб чиқилди (2.7-расм).



|  |  |
| --- | --- |
| 2.4-расм. Шохли ҳайвон қонзардобини титрлаш | 2.5-расм. Одам қонзардобини титрлаш |



|  |  |
| --- | --- |
| 2.6-расм. От қонзардобини титрлаш | 2.7-расм. Қуш қонЗардобини титрлаш |

Пробиркаларнинг ҳар бир қатори алоҳида капилляр томизғичи бўлиши лозим, ушбу томизғич ёрдамида антиген суюқлиги остига қатлам ҳосил қилган ҳолда преципитацияловчи зардоб қўшилди - 1:10000 эритмасидан бошланиб, 1:1000да тугатилди. Бунда муайян миқдорий нисбатга риоя этилди (1:8; 1:10), яъни 0,7-0,9 эритмага 0,1 нисбат преципитацияловчи иммун зардоб қўшилди. Капилляр томизғичи ҳар бир антиген эритмаси учун алоҳида ишлатилинади, ва зардоб миқдори (тахминан 0,1 мл) тортиб олинади. Антигенли преципитация пробиркаси (10) чап қўлга олинади ва горизонтал ҳолатга келтирилади. Капилляр томизғичи (юқори учи бармоқ билан қаттиқ сиқилган ҳолда) зардоб билан пробирканинг девори бўйлаб аста-секин тубигача туширилади. Шундан сўнг пробирка вертикал ҳолатга келтирилади, бармоқ билан сиқиб турилган капилляр учи секинлик билан қўйиб юборилади ва зардоб аста-секинлик билан пробирка тубига қуйилади ва капилляр томизғич пробиркадан секинлик билан чиқарилади, учи пахта билан артилиб, худди шу тарзда бошқа эритмалар билан бажарилди. Антигеннинг зардоб билан қўшилиш чегарасида 10 дақиқагача бўлган муддатларда оқиш ҳалқалар кўринишидаги чўкмалар ҳосил бўлди (2.8-расм), бу ҳалқалар қора экран фонида яхши кўринади. Зардобнинг титрини текшириш натижалари ишчи жадвалга киритилади.

2.8-расм

Жадвалда зардобнинг пробиркага киритилиш вақти ва чўкма ҳосил бўлиш вақти аниқ кўрсатилган бўлиши лозим. Преципитацияловчи иммун зардобларнинг титри – 1:10000 гача бўлди.

Преципитацияловчи иммун зардобларнинг спецификлигини текшириш учун уни бошқа оқсил антигенларини реакцияга киритиш орқали амалга оширилди. Антигенлар 1:100 ва 1:1000 нисбатда суюлтирилди (титрланди): биринчиси - бошланғич (100), иккинчиси - ишчи 1:1000 (1). Кимёвий пробиркаларга мос ёзувлар ёзиб қўйилади (12-расм).

Преципитацияловчи иммун зардобнинг спецификлигини аниқлаш учун зардоблар титрини текширишда қўлланилган 1:1000 нисбатда суюлтирилган антиген эритмаларидан фойдаланиш мақсадга мувофиқ. Текширилаётган зардоблар турига мос равишда преципитацион пробиркалар олиниб штативга жойлаштирилди. Одам оқсили преципитацияловчи иммун зардобларнинг спецификлиги текширишда назорат учун от ва шохли ҳайвон қон зардоблари реакцияга киритилди.

Иммун зардобларнинг спецификлигини текшириш мақсадида преципитацион пробиркалар штативда уч қатор қилиб жойлаштирилди. Пробиркаларнинг юқори қисмига антигеннинг бош ҳарфи ва пастки қисмига текширилаётган иммун зардобнинг бош ҳарфи ёзилди ва яхшилаб аралаштирилган 1:100 ва 1:1000 нисбатда суюлтирилган (титрланган) антиген қуйиб чиқилди, сўнгра преципитацияловчи иммун зардоблар юқорида кўрсатилган услубда қўшилди. Кузатиш муддати 1 соатни ташкил қилди. Ушбу вақт мобайнида преципитация ҳалқаларининг ҳосил бўлмаслиги преципитацияловчи зардобнинг спецификлигини кўрсатади. Зардобларнинг спецификлигини текшириш натижалари ишчи жадвалда кўрсатилди.

**2.2.2. Агар гелида преципитация реакцияси усулида (Ouchterlony) доғлардаги қоннинг турини аниқлаш**

Преципитация реакцияси учун тайёрланган агар (0,8-1%) суюқ ҳолатга келтириш учун сув ҳаммомида иситилди ва даражаланган томизғич билан Петри косачаларига 1,5-2 мм қалинликдаги қатлам ҳосил қиладиган қилиб солиб чиқилади. Хона ҳароратида қуритилган ҳар бир косачадаги агарда тешгич ёрдамида диаметри 2 см бўлган айлана шаклда жойлашган 0,3-0,5 см диаметрдаги бир-биридан бир хил (0,5-0,7 см) масофада олтита ва марказида алоҳида ўйиқ (ойнагача) ҳосил қилинди. Бунда, айлана шаклда ҳосил қилинган ўйиқлардан ажратилган агар бўлакчалари препарат игнаси ёрдамида олиб ташланди. Барча косачаларга пастер томизгичларининг ингичка капилляр қисми билан: марказдаги ўйиққа антиген (қон сиқмаси) ва атрофдаги ўйиқларга преципитацияловчи иммун зардоблар (одам, қуш, шохли ҳайвон ва б.қ.) томчиси солиб чиқилди. Ҳар бир объект сиқмаси, предмет-ташувчининг назорат соҳасидан олинган сиқмаси одам, шохли ҳайвон, от ва қуш оқсилларини преципитацияловчи зардоблари билан реакцияга қўйилди. Барча косачалар нам камераларда термостатда +37°С ҳароратда 18-24 соатга қолдирилди, сўнгра реакция натижалари агар қатламини қора экран фонида ўтувчи ёруғликда визуал текширилди.

Текширув объекти ва предмет-ташувчининг назорат соҳасидан олинган сиқмалар, шунингдек преципитацияловчи зардоблар агарда диффузияланади. Антигеннинг антитана билан агардаги специфик ўзаро таъсирида сиқма билан преципитацияловчи зардобнинг учрашиш жойида (тегишли ўйиқлар оралиғида) преципитация реакцияси натижасидаги оқиш-кулранг чизиқлар пайдо бўлди (2.9-расм).

Расм 2.9. Агар гелида преципитация реакцияси.

Агар гелидаги преципитация реакцияси суюқ муҳитдаги Чистович-Уленгут преципитация реакциясига қараганда кам сезгирликка эга. Шу сабабли кичик ҳажмдаги қон доғлари объектларида етарли миқдордаги антигенга эга бўлмаган кучсиз сиқмалари суюлтирилмаган кўринишда, аммо улар кучли концентрацияга эга бўлганида, нисбатан катта бўлмаган сиқмада текширилади. Ашёвий далиллар объектларининг назорат соҳаларидан тайёрланган сиқмалар суюлтирилмайди. Суюлтирилмаган ёки кам миқдорда суюлтирилган қон доғи сиқмалари билан преципитат чизиқларини, нафақат муайян турга мансуб оқсилларни преципитацияловчи иммун зардоби билан ёки бошқа оқсил турларини преципитацияловчи зардоблар билан ҳам ҳосил қилса, сиқмани кўпроқ суюлтириш ва реакцияни такрорий ўтказиш зарур бўлади. Ашёвий далиллардаги қон доғидан олинган сиқмадаги оқсилнинг миқдори кам бўлганида, унинг тур мансублигини агар гелидаги преципитация реакцияси ёрдамида кўзланган натижага эришиб бўлмади.

**2.2.3. Доғлардаги қоннинг тур мансублигини радиал**

**иммунодиффузия усули ёрдамида аниқлаш**

Тадқиқот объекти бўлиб, одам ва ҳайвонлар оқсилини преципитацияловчи иммун зардоблар, олдиндан тайёрланган экспериментал қон (одам, қуш, шохли ҳайвон, от) доғлари хизмат қилди.

Қуёнларни иммунизация қилиш йўли билан олинган преципитацияловчи иммун зардоблар билан бир вақтнинг ўзида одам ва ҳайвонларнинг қони турли тўқимачилик-матоларда ҳамда индифферент предмет-ташувчида (фильтр қоғоз) экспериментал қон доғлари тайёрланди. Фильтрловчи қоғоз ва тўқимачилик матолар қайчи билан 5х5 ўлчамли тўртбурчак шаклдаги қийқимларга кесилди ва ойнага жойлаштирилди. Суюқ қон бу қийқимларга бир текис суртилди. Объектлар хона ҳароратида қуритилди. Қуритилгандан кейин доғларга қон тури, тайёрланиш санаси ва сақланиш муддати кўрсатилган лейкопластирли ёрлиқлар ёпиштирилди. Тайёр объектлар хона ҳароратида ёруғлик тушмайдиган жойда сақланди.

Жами бўлиб, одам, қуш, шохли ҳайвон ва от қонига мансуб бўлган, муддати 2 кундан 6 ойгача бўлган 65 та қон зардоби ва 238 та қон доғи текширилди. Тадқиқотлар антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия усули ёрдамида доғлардаги қоннинг тур мансублиги аниқланди.

Антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия усулининг моҳияти шундан иборатки, преципитацияловчи иммун зардоблар гел билан аралаштирилганда антитана-гел матрицаси ҳосил бўлади ва унга антигенлар суртилади. Антигенлар радиал диффузияланади ва тегишли антитаналар билан учрашиб оптимал миқдорий нисбатлар зонасида преципитация ҳалқаларини ҳосил қилади. Тадқиқотлар учун «Агар-агар» гели веронал-ацетат буфер эритмада тайёрланган, рН 8,6га эга бўлган агардан фойдаланилди. Преципитацияловчи зардоб ва агарли гелнинг антитана-гел матрицасидаги оптимал нисбати 1:20 дан 1:100 гачани ташкил қилди.

Мазкур тадқиқотлар жараёнида ҳайвонларни иммунизация қилиш усули орқали олинган одам, от, шохли ҳайвон ва қуш (товуқ) оқсилларини перципитацияловчи диагностик иммун зардоблардан фойдаланилди. Тажрибалар ўтказишдан олдин преципитацияловчи иммун зардобларнинг титри ва спецификлиги суюқ муҳитдаги преципитация реакцияси орқали текширилди. Преципитацияловчи иммун зардобларнинг титри 1:1000дан паст бўлмаган тақдирда, ушбу зардоблар специфик саналади.

**Реакцияни амалга ошириш техникаси**

Антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия усулини предмет ойналарида, ойнали пластинкаларда ёки Петри косачаларида ҳам бажарилиши мумкин. Реакцияни асосан яхшилаб ювилган ва қуритиш шкафида қуритилган (35-400С ҳароратда) предмет ойналарида амалга оширилди.

Энг аввало, агарли гел, сўнгра иммун зардоблар тайёрланди. Антитана-гел матрицасида текширилаётган антиген комплекслари компонентларининг яхши эритилишига агардан фойдаланиб эришилди.

Гелни тайёрлаш учун 1,5 гр қуруқ агар ўлчаб олиниб, колбага солинди ва 100 мл веронал-ацетатнинг рН 8,6 буфер эритмаси қуйилди. Колба бир неча марта аралаштирилди. Агар заррачалари буфер эритмасида тўлиқ эриб кетганидан сўнг қайнаб турган сув ҳаммомига жойлаштирилди. Параллел равишда преципитацияловчи диагностик иммун зардоблар тайёрланди. Ампулалардаги преципитацияловчи иммун зардоблар шиша стаканларга жойлаштирилди ва термостатга 480С ҳароратгача қиздириш учун қўйилди. Сўнгра агарли гел, 480С гача совутилиб, алоҳида агглютинацион пробиркаларда олинган тегишли преципитацияловчи зардоб билан ишчи прапорцияда аралаштирилади. Пробиркалар таркиби яхшилаб силкитиб аралаштирилди, сўнгра қатъий горизонтал жойлаштирилган иситилган предмет ойналарига 2 млдан қуйиб чиқилди. Бунда антитана-гел матрицаси аралашмаси ойна юзасига бир текис тақсимланди. Антитана-гел матрицаси қатлами қалинлиги қотганидан кейин 1,5 мм атрофида бўлди.

Гелнинг ойнага ёпишишини кучайтириш учун ойнани олдиндан юпқа агарли қатлам билан қоплаш мумкин, бунинг учун ойнага 1 мл агар кукунининг 1%ли сувли эритмаси суртилди ва термостатда 700С қўйилди. Антитана-гел матрицасининг тайёрланган препарати дарҳол ишлатилмаса, гелга консервант (100 мл.га 0,1 г мертиолят) қўшиш зарур бўлади. Ушбу ҳолатда препаратни 2-3 ҳафта мобайнида нам камерада 40С ҳароратда сақлаш мумкин.

 Тўлиқ қотганидан кейин гелда предмет ойначаси остида жойлашган трафарет бўйича чуқурчалар ўйилди. Чуқурчалар сони тажрибага олинган объектлар сонига боғлиқ бўлди. Чуқурчаларни ташқи диаметри 2 мм ташкил қилди. Кесилган гелни чуқурлардан олиб ташлаш стерил шприц билан сўриб олиш орқали бажарилди.

Текшириладиган антиген намуналари ва бошқа компонентлар чуқурчаларга капилляр томизгич ёрдамида 0,05 мл миқдорда солиб чиқилди. Шундан сўнг препарат нам камерага жойлаштирилди ва хона ҳароратида иммунодиффузияланди. Ингредиентлар реакцияга киритилганидан 12-соатдан бошлаб антиген чуқурчалари атрофида тегишли антитана-гел матрицасида оқиш рангдаги преципитация ҳалқалари пайдо бўлди. Иммунодиффузия реакцияси 24 соатгача давом эттирилди. Бунда преципитация ҳалқаларининг яққол ифодаланишига эришилди.

**§ 2.3. Статистик усуллар**

Статистик тадқиқотлар, стандарт клиник тавсиялар асосида ўтказилди. Миқдорий маълумотлар ўртача арифметик (М) ± стандарт четга оғишлар (SD) нормал тақсимланиш ҳолатида ва медиана (Md) ҳамда квартили (Q) ёки (SD) бошқа тақсимланишларда ифодаланди. Статистика сезиларли ўзгаришлар сифатида ишончлилик даражаси Р<0,05 қабул қилинди.

Тадқиқот натижаларига ишлов бериш Pentium-IV персонал компьютерида Microsoft Exell, Microsoft Access амалий офис дастурларидан, ҳамда биостатистика бўйича STATPLUS (2009) дастурларидан фойдаланиб, ўрганилаётган кўрсаткичнинг ўртача арифметик қиймат (M), унинг квадрат хатосини (m), ишончлилик кўрсаткичларини (P) ва Стьюдент мезони ҳисоблаб чиқилди.

**III БОБ.**

**СУД-ТИББИЙ ЭКСПЕРТИЗА ИЛМИЙ АМАЛИЙ МАРКАЗИНИНГ ТОШКЕНТ ВИЛОЯТ ФИЛИАЛИДАГИ ЭКСПЕРТ МАТЕРИАЛЛАРИ МАЪЛУМОТЛАРИ БЎЙИЧА ДОҒЛАРДАГИ ҚОННИНГ ТУР МАНСУБЛИГИНИ АНИҚЛАШ ТАҲЛИЛИ**

 Замонавий иммунологиянинг таркибий қисмларидан бири суд-тиббиёти иммунологияси ҳисобланиб, ашёвий далиллар суд-тиббий экспертизасининг асосини ташкил қилади. Суд-тиббий экспертизанинг асосий объектлари бўлиб, турли хил предмет-ташувчилардаги қон доғлари экспертизаси саналади. Бунда, қон мавжудлиги аниқлангандан сўнг, унинг тур мансублиги аниқланади. Ушбу масалани ҳал этишда суд тиббиёти экспертлари иммунологик реакцияларга мурожаат этишади [14, 19, 28].

Бугунги кунда биологик объектларнинг турини аниқлашда преципитация, иммунодиффузия, ҳамда жавоб тариқасидаги иммуноэлектрофорез реакцияларидан кенг фойдаланилади. Ушбу реакциялар қон зардобининг 1:10000 нисбатдаги аралашмасида қон турини аниқлаш имконини беради. Аммо қон доғларини ўрганишда узоқ муддатдаги доғларнинг эскилиги, ифлосланганлиги, ҳамда текширилаётган материал сонининг чекланганлиги муайян қийинчиликлар туғдиради [20, 24, 28].

Шунингдек, предмет-ташувчи из доғларига нохуш таъсир этган ҳолатларда ҳам муайян қийинчиликлар кузатилиши мумкин, бу носпецифик натижалар олинишига олиб келади [28, 33].

Қоннинг тур мансублигини аниқлаш суд-тиббий экспертизаси шахсга қарши жиноятлар, ҳайвонот оламини қўриқлаш ва тиклаш, ундан оқилона фойдаланиш, давлат, кооператив ва шахсий мулк ҳисобланувчи ҳайвонларни ўғирлаш ва ноқонуний ўлдириш ишлари, чорвачилик, ов ва балиқчилик маҳсулотларини суистеъмол қилиш, ҳайвонларни қийнаш билан боғлиқ жиноятларни очишда муҳим аҳамиятга эга [62].

Аммо суд тиббиётига оид нашр маълумотлари шуни кўрсатадики, доғлардаги қоннинг тур мансублигини аниқлаш бўйича ижобий натижалар сони шундай текширувлар ўтказилган экспертизалар сонига нисбатан 90-92%ни ва қон излари топилган экспертизаларга нисбатан 84-89%ни ташкил қилади. Бу шуни англатадики, 11-16% суд-тиббий экспертизаларда у ёки бу сабабларга кўра қоннинг тур мансублиги ва спецификлиги аниқланмаган. Демак, бундай ҳолатларда қон экспертизаси ўз ечимига эга бўлмайди.

Тадқиқот мақсади этиб, доғларда қон турини аниқлаш бўйича манфий натижаларга эга бўлган эксперт материалларининг таҳлилини ўтказиш этиб олинди.

Қон доғлари мавжуд бўлган объектларда (қон мавжудлиги аниқланганидан сўнг) преципитация усуллари ёрдамида қоннинг тур мансублиги аниқлаш таҳлил қилинди. Шу мақсадда ўтказилган суд-тиббий экспертиза текширув хулосалари ва далолатномаларининг сони ўрганилди. Манфий натижалар частотасининг йил фаслларига боғлиқлиги, яъни ҳарорат омили билан боғлиқлиги ўрганилди, аниқланиш самарадорлиги (фоизларда) белгиланди.

Турли предмет-ташувчилардаги қон доғларининг турини аниқлаш бўйича олинган манфий натижаларнинг фоиз нисбатини аниқлаш учун Республика суд тиббий экспертизаси илмий амалий маркази Тошкент вилояти филиали суд биология бўлимининг 2014-2018 йиллардаги архив материаллари ретроспектив таҳлил қилинди. Бунда қуйидагилар ҳисобга олинди:

- йилнинг ҳар бир мавсумида доғлардаги (изларда) қоннинг турини аниқлаш учун лабораторияга келтирилган объектларнинг умумий сони;

- олиб келинган обеъктлардан қанчасида қоннинг тур мансублиги аниқланган;

- қоннинг тур мансублиги аниқланган объектлар, умумий қон аниқланган объектлар сонига нисбатан қанча фоизни ташкил қилганлиги;

- қанча миқдордаги объектларда қоннинг тур мансублиги умуман аниқланмаган.

РСТЭИАМ Тошкент вилояти филиалида сўнгги 5 йил ичида ашёвий далиллардаги доғларда қоннинг тур мансублигини аниқлаш бўйича 17468 та экспертиза ўтказилган. Текширилган умумий объектлар сони 41874 тани ташкил қилган.

Архив материалида ўтказилган таҳлил натижалари 3.1-жадвалда умумлаштирилган.

 **3.1-жадвал**

**Қон мавжудлиги ва тур мансублигини аниқлаш бўйича СТЭ объектларини текширишга доир 2014-2018 йй. давомидаги архив материалларини таҳлил қилиш натижалари**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Тадқиқотйиллари | Текширилган объектлар умумий сони | Қон аниқланган объектларнинг умумий сони | Қоннинг тур мансублиги аниқланган объектларнинг умумий сони | Преципитация реакциясининг натижалари |
| Мусбат | Манфий |
| 2014 | 7475 | 4944 | 4761 | 4600 | 161 |
| 2015 | 8056 | 4328 | 4237 | 3944 | 293 |
| 2016 | 8267 | 3965 | 3365 | 3044 | 321 |
| 2017 | 6593 | 3215 | 3215 | 3169 | 46 |
| 2018 | 11483 | 5194 | 1890 | 1887 | 3 |
| Жами | 41874 | 21646 | 17468 | 16644 | 824 |

Жадвалдан кўриниб турибдики, текшириш объектларининг умумий сони 41874 та, шундан 21646 объектда қон аниқланган. Ушбу объектларни текширишда, қоннинг тур мансублигини аниқлаш учун 17468 та объект текширувдан ўтказилган, шундан тур мансублилик (одам қони) 16622 объектда (95,2%), ҳайвонлар қони 22 (0,1%) объектда аниқланган. Қолган 824 объектда (4,7%) қоннинг тур мансублилиги умуман аниқланмаган. Бу кўпроқ қон доғлари металл ва ёғоч предметларда, шунингдек тупроқда бўлгандаги ҳолатларга тегишли бўлди.

Қайд этиш лозимки, қон мавжудлиги аниқланган объектларнинг умумий (21646) сонидан 4178 та объектда (19,3%) РСТЭИАМ Тошкент вилояти филиалида преципитацияловчи иммун зардоб мавжуд бўлмаганлиги сабабли қоннинг тур ва гуруҳий мансублигини умуман аниқлашнинг имконияти бўлмаган. Қондаги оқсилнинг тур мансублигини аниқлаш учун текширилган 824 та объектдан 578 объектда (70,2%) доғларнинг ифлослиги сабабли қоннинг тур мансублиги аниқланмаган, 161 объектда (19,5%) қон тури предмет-ташувчининг хоссаларини ўзгариши ҳисобига, 85 объектда эса (10,3%) объект миқдорининг камлиги ҳисобига аниқланмаган.

Архив материалининг йил мавсумлари бўйича таҳлилида аниқландики, доғларда қоннинг тур мансублигини аниқлаш бўйича кўпроқ манфий натижалар йилнинг биринчи (26,5%) ва (25,7%) чоракларига,яъни қиш-баҳор мавсумларига тўғри келади ва улар барча ҳолатнинг 52,2% ни ташкил қилди. Йилнинг учинчи (23,2%) ва тўртинчи (24,6%) чораклари, яъни ёз-куз мавсумларида манфий натижалар (47,8%) камроқ кузатилади, бунда доғлардаги қоннинг тур мансублиги аниқланмаган( 3.2-жадвал).

**3.2-жадвал**

**Ашёвий далилларда қоннинг тур мансублигини аниқлашда олинган манфий натижаларнинг йил мавсумлари бўйича тақсимланиши**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Йил чораклари бўйича(2014-2018) | Қоннинг тур мансублиги аниқланмаган | Қоннинг тур мансублиги аниқланмаганлигининг сабаблари |
| абс | % | Қон доғининг кирланганлиги | Предмет ташувчининг таъсири | Объект миқдорининг камлиги |
| I | 218 | 26,5% | 153 | 43 | 22 |
| II | 212 | 25,7% | 149 | 41 | 22 |
| III | 191 | 23,2% | 134 | 37 | 20 |
| IV | 203 | 24,6% | 142 | 40 | 21 |
| Жами | 824 | 100 % | 578 | 161 | 85 |

Шундай қилиб, таҳлилдан кўриниб турибдики, аксарият ҳолатларда, РСТЭИАМ Тошкент вилояти филиалида преципитацияловчи иммун зардобларнинг йўқлиги сабабли доғларда қоннинг тур мансублигини аниқлашнинг имконияти бўлмаган. Ифлосланиш сабабли доғлардаги қон турини аниқлаш, предмет-ташувчининг хусусиятларининг ўзгариши ва объект сонининг камлиги сабабли қоннинг тур мансублигини аниқлашнинг имконсизлиги экспертларни ушбу ҳолатга олиб келувчи сабабларни қидириб топишга ундайди.

**Хулоса:**

Доғларда қоннинг тур мансублигини аниқлаш бўйича кўпроқ манфий натижалар йилнинг қиш-баҳор мавсумларига тўғри келган. Улар барча ҳолатнинг 52,2% ни ташкил қилган. Йилнинг ёз-куз мавсумларида манфий натижалар камроқ кузатилган.

Юқорида қайд этилган ҳолатлар оқсилнинг турга оид спецификлигини аниқлаш борасидаги мавжуд камчиликларни бартараф этиш имконини берадиган усулларни излаб топиш заруратини юзага келтиради ва бу ашёвий далиллар суд-тиббий экспертизасининг долзарб ҳамда муҳим муаммоларидан бирига айланади.

IV БОБ.

ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ СПЕЦИФИК ИММУН ЗАРДОБЛАР

ОЛИШ МАҚСАДИДА ҲАЙВОНЛАРНИ ИММУНИЗАЦИЯЛАШДА ИММУНОСТИМУЛЯТОР СИФАТИДА ФОРМАЛИНДАН ФОЙДАЛАНИШ

Тадқиқотнинг ушбу бобида қон турини аниқлаш мақсадида юқори титрга эга специфик преципитацияловчи иммун зардобларни олишда ҳайвонларни иммунизация қилиш орқали формалиннинг стимулловчи хусусияти текширилди.

Қуёнларни иммунизациялашда антиген сифатида одам ва ҳайвонлар (от, шохли ҳайвон, товуқ) қон зардоблари ва формалиннинг 1%ли эритмасининг аралашмасидан тайёрланган антиген (1-гуруҳ), ҳайвонлар (от, шохли ҳайвон, товуқ) қон зардоблари ва формалиннинг 5%ли эритмаси (2-гуруҳ), ҳайвонлар (от, шохли ҳайвон, товуқ) қон зардоблари ва 10%ли формалин эритмалари (3-гуруҳ)нинг 1:1 нисбатдаги аралашмаларидан тайёрланган антигенлар совутгичда 72 соат мобайнида 4-6°С ҳароратда сақланган антигенларидан фойдаланилди. Назорат сифатида қуёнларни (жами 32 та) одам ва ҳайвон қон зардоблари ва 0,9%ли физиологик эритма аралашмаси билан иммунизацияси амалга оширилди (4-гуруҳ).

Қуёнларнинг қулоқ чекка венасидан қон олинди, сўнгра олинган зардобларнинг спецификлиги ва антитаналарнинг титри аниқланди. Преципитацияловчи зардобларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 бўлса, яъни зардоб 5000 ёки 10000 марта суюлтирилган гомологик нормал зардобга қўшилганда 10 дақиқа ичида преципитация ҳалқасини ҳосил қилса ва 1000 марта суюлтирилган бошқа турдаги нормал изозардоблар билан бир соат ичида преципитация ҳалқасини ҳосил қилмаса суд-тиббий экспертиза тадқиқотлари учун яроқли саналади.

Одам қон зардоби ва 10%ли формалин эритмаси аралашмасини киритиш, иммунизацияланган ҳайвонларнинг 60%дагина бирламчи иммунизациядан кейин иммун жавобни чақирди (4.1-расм), қон зардоби ва формалиннинг 5% эритмаси, ҳамда 1% ли формалин эритмаси юборилганда эса иммун жавобга эга ҳайвонлар фоизи мос равишда 40% ва 20% ни ташкил қилди (4.2- ва 4.3-расмлар).

4.1-расм. Бирламчи иммунизациядан кейин зардоб ва 10%ли формалин

аралашмаси билан ҳайвонларни иммунизациялаш диаграммаси

Диаграммадан кўриниб турибдики, 10 та қуёнлар одам қони зардоби ва формалиннинг 10% ли эритмасидадан иборат антиген билан бирламчи иммунизациясидан сўнг 6 та ҳайвонда титри 1:5000 ва 1:10000 бўлган, 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилган преципитацияловчи иммун зардоблар олинди. Қолган 4 та ҳайвонда эса антитаналар титри 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқагача бўлган муддатни ташкил қилди.

Диаграммадан маълумки, 4 та қуёнлар одам қони зардоби ва формалиннинг 10% ли эритмасидан иборат антиген билан реиммунизацияси ўтказилганидан сўнг 3 та қуёнда титри 1:5000 ва 1:10000 бўлган, 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилган преципитацияловчи иммун зардоблар олинди (4.2-расм). Қолган 1 та ҳайвонда эса антитаналар титри 1:1000 га мос келди. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқагача бўлган муддатни ташкил қилди.

4.2-диаграмма. Бирламчи иммунизациядан кейин зардоб ва 10%ли формалин

аралашмаси билан ҳайвонларни иммунизациялаш диаграммаси

Диаграммадан кўриниб турибдики, 10 та қуёнлар одам қони зардоби ва формалиннинг 5%ли эритмасидан иборат антиген билан бирламчи иммунизациясидан сўнг 4 та ҳайвонда титри 1:5000 ва 1:10000 бўлган, 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилган преципитацияловчи иммун зардоблар олинди (4.3-расм). Қолган 6 та ҳайвонда эса антитаналар титри 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқа муддатни ташкил қилди.

4.3-расм. одам қон зардоби ва формалиннинг 5%ли эритмаси аралашмаси билан

ҳайвонларни бирламчи иммунизациядан кейинги диаграммаси

Диаграммадан маълумки, 6 та қуёнлар одам қони зардоби ва формалиннинг 5% ли эритмасидан иборат антиген билан реиммунизацияси ўтказилганидан сўнг 2 та қуёнда титри 1:5000 ва 1:10000 бўлган, 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилган преципитацияловчи иммун зардоблар олинди (4.4-расм). Қолган 4 та ҳайвонда эса антитаналар титри 1:100, 1:1000 дан юқорига кўтарилмади. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил этди.

4.4-расм. одам қон зардоби ва формалиннинг 5%ли эритмаси аралашмаси билан

ҳайвонларни реиммунизациядан кейинги диаграммаси

Диаграммадан кўриниб турибдики, 10 та қуёнлар одам қони зардоби ва формалиннинг 1%ли эритмаси билан 1:1 нисбатдаги аралашмасидан тайёрланган антиген билан бирламчи иммунизация ўтказилганидан сўнг 2 та ҳайвонда титри 1:5000 ва 1:10000 бўлган, 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилган преципитацияловчи иммун зардоблар олинди (4.5-расм). Қолган 8 та ҳайвонда эса антитаналар титри 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил қилди.

Бундан кўриниб турибдики, бирламчи иммунизациядан кейин титри 1:100 ва 1:1000 бўлган 8 та қуёнлар одам қони зардоби ва формалиннинг 1%ли эритмаси билан аралашмасидан тайёрланган антиген билан реиммунизация қилинганида, 2 та қуёнда иммун зардоблар титрини 1:5000 ва 1:10000 кўтаришга эришилди, улар 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилди (4.6-расм). Қолган 6 та ҳайвонда эса антитаналар титри 1:100, 1:1000 дан юқорига кўтарилмади. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил этди.

4.5-расм. одам қон зардоби ва формалиннинг 1%ли эритмаси аралашмаси билан ҳайвонларни бирламчи иммунизациядан кейинги диаграммаси

4.6-расм. Одам қон зардоби ва формалиннинг 1%ли эритмаси аралашмаси билан ҳайвонларни реиммунизациядан кейинги диаграммаси

Иккинчи гуруҳдаги 10 та қуён қуш (товуқ) қон зардоби ва формалиннинг 10%ли эритмаси билан аралашмасидан иборат антиген билан бирламчи иммунизация қилинганидан сўнг 8 та ҳайвонда преципитинлар­нинг титри 1:5000 ва 1:10000 бўлди, преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш вақти 10 дақиқагача бўлган муддатни ташкил қилди. Қолган 2 та қуёнда антитаналарнинг титри 1:1000 га тенг бўлди. Ушбу қуёнларда реиммунизация ўтказилганидан сўнг 1 та қуёнда титри 1:5000 га тенг бўлиб, 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилган. 1 та қуёнда эса антитаналарнинг титри 1:1000 га тенг бўлиб, ўзгаришсиз қолди.

Қуш қон зардоби ва формалиннинг 5%ли эритмасидан иборат антиген билан 10 та қуён бирламчи иммунизация қилинганида, 5 та ҳайвонда титри 1:5000 ва 1:10000 бўлди, 10 дақақа давомида преципитация реакция кузатилди. Қолган 5 та қуёнда антитаналар титри 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Бу қуёнлар реиммунизация қилинганида 2 та қуёнда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 эканлиги аниқланди. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил қилди.

Формалиннинг 1%ли эритмаси ва қуш қон зардоби аралашмасидан иборат антиген 10 та қуёнга бирламчи иммунизация қилинганида, 3 та қуённинг қонида преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 ни ташкил қилди, преципитация реакциясининг давомийлиги 10 дақиқани ташкил қилди. Қолган 7 та қуёнда антитаналар титри ишчи титрдан паст, яъни 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Бу қуёнлар реиммунизация қилинганида 5 та қуёнда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 ни ташкил қилиб, преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил қилди.

Учинчи гуруҳдаги 10 та қуён антиген сифатида от қон зардоби ва формалиннинг 10%ли эритмаси билан бирламчи иммунизация қилинганиши натижасида, 6 та ҳайвонда ишчи титрга эга преципитинлар яъни 1:5000 ва 1:10000 бўлди, преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш вақти 10 дақиқани ташкил қилди, реиммунизациядан кейин эса яна 2 та қуёнда антитаналарнинг титри 1:5000 ва 1:10000 нисбатга етказилди. Мазкур зардоблар 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил қилди. 2 та қуёнда эса антитаналарнинг титри 1:1000 га тенг бўлиб, ўзгаришсиз қолди.

От қон зардоби ва формалиннинг 5%ли эритмасидан иборат антиген билан 10 та қуён бирламчи иммунизация қилинганида, 4 та ҳайвонда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 бўлди, 10 дақақа давомида преципитация реакция кузатилди. Қолган 6 та қуёнда антитаналар титри 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Қонида преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 дан паст бўлган қуёнлар реиммунизация қилинганида 2 та қуёнда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 эканлиги аниқланди. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил қилди.

Формалиннинг 1%ли эритмаси ва от қон зардоби аралашмасидан тайёрланган антиген 10 та қуёнга бирламчи иммунизация қилинганида, 2 та қуённинг қонида преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 ни ташкил қилди, преципитация реакциясининг давомийлиги 10 дақиқадан иборат бўлди. Қолган 8 та қуёнда антитаналар титри ишчи титрдан паст, яъни 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Бу қуёнлар реиммунизация қилинганида 2 та қуёнда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 ни ташкил қилиб, преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил қилди.

Тўртинчи гуруҳдаги 20 та қуёнлар антиген сифатида шохли ҳайвон (буқа 10 та ва қўй 10 та) қон зардоблари ва формалиннинг 10%ли эритмаси билан бирламчи иммунизация қилинганида, 12 та ҳайвонда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 га тенг бўлди, преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш вақти 10 дақиқа. Қолган 8 та қуёнда антитаналарнинг титри 1:100 ва 1:1000 га тенг бўлди. Ушбу қуёнларда реиммунизация ўтказилганидан сўнг 4 та қуёнда титри 1:5000 ва 1:10000 га тенг бўлиб, 10 дақақа давомида преципитация реакция ҳалқасини ҳосил бўлди. 4 та қуёнда эса антитаналарнинг титри 1:100 ва 1:1000 га тенг бўлиб, ўзгаришсиз қолди.

Шохли ҳайвон (буқа 10 та ва қўй 10 та) қон зардоблари ва формалиннинг 5%ли эритмасидан иборат антигенлар билан 20 та қуён бирламчи иммунизация қилинганида, 8 та ҳайвонларда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 эканлиги аниқланди, 10 дақақа давомида преципитация реакция кузатилди. Қолган 12 та қуёнда антитаналар титри 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Қонида преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 дан паст бўлган қуёнлар реиммунизация қилинганида 4 та қуёнда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 эканлиги аниқланди. Преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил қилди.

Формалиннинг 1%ли эритмаси ва шохли ҳайвон (буқа 10 та ва қўй 10 та) қон зардоблари аралашмасидан иборат антиген 20 та қуёнга бирламчи иммунизация қилинганида, 4 та қуённинг қонида преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 ни ташкил қилди, преципитация реакциясининг давомийлиги 10 дақиқадан иборат бўлди. Қолган 16 та қуёнда антитаналар титри ишчи титрдан паст, яъни 1:1000 ва 1:100 га мос келди. Бу қуёнлар реиммунизация қилинганида 8 та қуёнда преципитинларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 ни ташкил қилиб, преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш муддати 10 дақиқани ташкил қилди.

**Хулоса**

Шундай қилиб, қуёнларни одам ёки ҳайвон қон зардобларини 10%ли формалин эритмаси билан аралашмасидан тайёрланган антигенлар ёрдамида реиммунизациялашдан сўнг 90-95% ҳолатларда титри юқори (1:5000, 1:10000) бўлган одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи иммун зардоблар олишга эришилди. Одам ва ҳайвон қон зардобларини 5%ли ҳамда 1%ли формалин аралашмаларидан тайёрланган антиген билан иммунизация қилиш орқали мусбат натижалар фоизи мос равишда 60% ва 40% ни ташкил қилди. Бунда им­мунизация жараёнининг давомийлиги 22 кунни ташкил этди, олинган преципитацияловчи иммун зардобларнинг титри 1:5000 ва 1:10000 эканлиги аниқланди, қуёнларнинг нобуд бўлиш ҳолатлари кузатилмади.

Иммунизацияда формалининг 10%ли эритмасидан фойдаланиш иммунологик реакцияларда одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи ва юқори специфик фаоллика эга бўлган преципитацияловчи иммун зардобларни олиш имкониятини берди. Бунда формалиннинг 10% эритмаси ҳайвонларга токсик таъсири кузатилмади ва адъювант касаллигини чақирмасдан, 90-95% қуёнда иммуностимулловчи таъсир самарага эришилди.

Антигенлар биринчи марта қуёнларга киритилганидан кейин тажриба гуруҳларидаги ҳайвонларнинг ташқи кўриниши назорат гуруҳидаги ҳайвонларникидан фарқланмади. Антигенлар иккинчи марта киритилганда ҳайвонларда иштаҳа ва ҳаракат фаолияти пасайганлиги кузатилди. Учинчи марта киритилгандан кейин айрим ҳайвонларда инъекция жойида гиперемия пайдо бўлиб, юрак уриши тезлашганлиги ва бироз талва ҳолатлари қайд этилди.

Реиммунизациядан кейин тажриба қуёнларининг ҳаракати назорат гуруҳидаги жониворларникига қараганда сустлиги сақланиб қолди, аммо ҳаракати ва ташқи кўринишида жиддий ўзгаришлар кузатилмади.

Олинган иммун зардобларнинг спецификлиги ва антитаналарнинг титри аниқланди. Бунда преципитацияловчи иммун зардоблар ишчи титрга ва спецификликка эга эканлиги аниқланди, яъни 1:1000 нисбатда 1 соат мобайнида муайян турдан ташқари бошқа антигенлар билан преципитация реакцияси кузатилмади.

10%ли формалиннинг иммуностимулловчи хусусиятидан фойдаланиш натижасида иммунизация жараёнининг давомийлиги сезиларли қисқарди (22 кун) ва юқори специфик зардоб олинди, бунда ҳайвонларда антитана ҳосил бўлишининг кучайиши ва меҳнат харажатларининг камайиши ҳисобига кутилаётган маҳсулотнинг чиқиши ортади. Шунингдек қайд этиш лозимки, бир марталик реиммунизациядан кейин ҳайвонлар қонидаги преципитинлар титрининг 90-95% ҳолатларда ошишига эришилди.

**§**4.1. **Преципитацияловчи иммун зардобларнинг спецификлигини текшириш**

Ҳайвонлардан қон олиниб, сўнгра олинган зардоблар специфик­лиги ва антитаналар титри аниқланди. Преципитацияловчи зардоблар титри 1:5000 ва 1:10000 бўлганда, яъни зардоб 10000 марта суюлтирилган гомологик нормал зардобга қўшилганда 10 дақиқа ичида чўкма ҳосил бўлса ва 1000 марта суюлтирилган бошқа турдаги нормал изозардоблар билан бир соат ичида чўкмалар ҳосил қилмаса суд-тиббий тадқиқотлари учун яроқли саналади (жадвал 4.2).

4.2-жадвал

Преципитацияловчи иммун зардобларнинг титри ва спецификлиги

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Гуруҳлар | Титр/преципитация вақти | Назорат гуруҳи | Спецификлик |
| 1-гуруҳ: одам антигени(10 та) | 1:100 (10) | +40 сек. | 1:100 | +3 мин. | Шохли ҳайвон, от, парранда қони нормал зардоблари билан 1000 баробар суюлтирилганда бир соат ичида чўкмалар бўлмаслиги |
| 1:1000 (10) | +1 мин. | 1:1000 | +6-8 мин. |
| 1:5000 (9) | +3 мин. | 1:5000 | +10-15 мин. |
| 1:10000 (7) | +6-8 мин. | 1:10000 | - |
| 2-гуруҳ: шохли ҳайвон антигени (10) | 1:100 | +20 сек. | 1:100 | +2 мин. | Одам, от, парранда қони нормал зардоблари билан 1000 баробар суюлтирилганда бир соат ичида чўкмалар бўлмаслиги |
| 1:1000 | +50 сек. | 1:1000 | +5-6 мин. |
| 1:5000 (9) | +2 мин. | 1:5000 | +15-20 мин. |
| 1:10000(8) | +4-6 мин. | 1:10000 | - |
| 3-гуруҳ: парранда антигени (10) | 1:100 | +10-12 сек. | 1:100 | +1 мин. | Одам,шохли ҳайвон, от қони нормал зардоблари билан 1000 баробар суюлтирилганда бир соат ичида чўкмалар бўлмаслиги |
| 1:1000 | +40 сек. | 1:1000 | +4-6 мин. |
| 1:5000 (10) | +1мин. | 1:5000 | +10-12 мин. |
| 1:10000 (9) | +3-5 мин. | 1:10000 | - |
| 4-гуруҳ: от антигени (10) | 1:100 () | +30 сек. | 1:100 | +2 мин. | Одам,шохли ҳайвон, парранда қонинормал зардоблари билан 1000 баробар суюлтирилганда бир соат ичида чўкмалар бўлмаслиги |
| 1:1000 | 55 сек. | 1:1000 | +4-6 мин. |
| 1:5000 (9) | +2 мин. | 1:5000 | +12-15 мин. |
| 1:10000 (8) | +4-6 мин. | 1:10000 | - |

Жадвалдан кўриниб турибдики, антитаналар титри биринчи гуруҳда 9 та ҳолатда 1:5000 ва 7 ҳолатда 1:10000 га мос келган. Иккинчи гуруҳда 9 та ҳолатда 1:5000 ва 8 ҳолатда 1:10000; учинчи гуруҳда 10 ҳолатда 1:5000 ва 9 ҳолатда 1:10000 га мос келди, тўртинчи гуруҳда 9 ҳолатда 1:5000 ва 8 та ҳолатда 1:10000 га мос келди

Аниқландики, барча олинган преципитацияловчи зардоблар ишчи титрлар билан специфик бўлди, яъни 1:1000 нисбатда 1 соат мобайнида преципитация реакцияси, тегишли турдан ташқари, бошқа антигенлар билан содир бўлмади.

**Хулоса. Т**адқиқот натижаларига кўра, оқсил антигенларининг 10%ли формалин эритмаси билан оптимал комбинациясига асосланган ва 90-95% ҳайвонда юқори иммун жавобни таъминлайдиган, иммунизация муддатлари, моддий ва меҳнат сарф-харажатларини сезиларли қисқартириш имконини берадиган гетероген зардоблар олишнинг янги самарали ёндошувлари ишлаб чиқилди.

Олинган иммун преципитацияловчи зардоблар юқори специфик саналади ва суд тиббиёти амалиётида қўллаш учун яроқли ҳисобланади.

**V БОБ. ҚОННИНГ ТУР МАНСУБЛИГИНИ АНИҚЛАШДА ОЛИНГАН ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ИММУН ЗАРДОБЛАРДАН ФОЙДАЛАНИШ**

**§5.1. Турли хил тўқима матоларидаги қон доғларини ўрганиш**

Аксарият экспертизаларда қон оқсилларининг тур спецификлигини турли хил тўқимачилик матолардаги (жабрланувчи, айбланувчининг кийим-кечаги, шахсий буюмлари) қон изларида аниқлашга тўғри келади. Қон доғлари мавжуд бўлган тўқимачилик мато бўлакларидан сиқмалар тайёрлашда қон антигенлари билан бирга мато бўялган бўёғи ҳам эрийди. Шу сабабли тўқимачилик матолардаги бўёқларнинг антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакциясининг натижасига таъсирини текширишга қарор қилдик.

Олинган преципитацияловчи иммун зардоблар ёрдамида қоннинг тур мансублигини аниқлаш мақсадида турли хил (қизил, сариқ, қора, кўк, яшил) рангдаги тўқимачилик матоларнинг тўрт хил навида экспериментал доғлар тайёрланди. Жами бўлиб 100 та қон доғи тайёрланди, шундан одам қони доғи 5 та юқорида кўрсатилган ранглардаги пахта толали матоларда (1-серия), 5 та ипак толали (2-серия) матоларда, 5 та сунъий толали (3-серия) матоларда,
5 та жун толали (4-серия) матоларда тайёрланди. Жами одам қони доғи намуналари 20 тани ташкил этди. Худди шу миқдорда от, шохли ҳайвон (буқа ва қўй) ва қуш (товуқ) қон доғлари аналогик ранглардаги матоларда тайёрланди. Доғлар хона ҳароратида қуритилди ва сақланди. Экспериментал доғлар тайёрланганидан 2-5 кун ўтиб, кейинги текширувлар амалга оширилди. Тўқимачилик матоларда тайёрланган қон доғларининг сиқмаларини олиш учун доғли матонинг 3-4 дона толаси 1 см узунликда қайчи билан кесиб олинди, майдалаб пробиркага солинди ва 1,0 физиологик эритма қўшилди. Пробиркалар 24 соат мобайнида 40С совутгичда экстракция учун қўйилди. Сўнгра бир хил турдаги матоларда ҳосил қилинган одам ва ҳайвон қони доғлари сиқмалари агар гелида ва антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия реакциялар усулида солиштирма қоннинг тур мансублигини аниқлаш амалга оширилди.

Агарли гелдаги преципитация реакцияси учун 1,0% ли агар, сувли ҳаммомда иситилган предмет ойначаси юзасига пипетка ёрдамида 1,5-2 мм қалинликдаги ёйиб чиқилди. Предмет ойначаси юзасидаги агар гели хона ҳароратида қотирилди. Ҳар бир предмет ойначаси юзасидаги агарли гелда 0,3-0,5 см диаметрдаги ўйиқчалар ҳосил қилинди. Ўйиқчалар учбурчак шаклда жойлаштирилди. Ўйиқчалар орасидаги масофа 0,5-0,7 смни ташкил қилди. Ўйиқчаларнинг биринчисига қон доғи сиқмалари солинди. Иккинчи ўйиқчага назорат (тоза) сиқма қуйилди. Учинчи ўйиқчага преципитацияловчи иммун зардоб солинди. Ушбу предмет ойнаси намли камерада 37°С ҳароратли термостатга 18-24 соатга қолдирилди. Шундан сўнг реакция натижаси қора экранли фонда баҳоланди. Агарда гомологик антиген билан преципитацияловчи иммун зардоб орасида оқ чизиқсимон ҳалқа ҳосил бўлса, демак реакция мусбат ҳисобланади.

 Татқиқотларнинг биринчи серияси барча рангли пахта толали матоларда ўтказилди. Антитана-гел матрицаси пластикаларда тайёрланди ва унда 2 тадан чуқурча кесиб олинди. Чуқурчаларга 2 мкл дан одам қон доғлари сиқмаларидан қаватма-қават қуйилди, худди шу тарзда ҳайвон қон доғлари сиқмалари ҳам қуйилди. Чуқурчаларнинг бирига предмет-ташувчи (пахта толали мато)нинг тоза жойидан киритилди. Иммунодиффузия 24 соат мобайнида хона ҳароратида амалга оширилди. Сўнгра препаратлар бўялди. Одам оқсилини преципитацияловчи зардоб киритилган пластинкаларнинг барчасида анологик антиген мавжуд бўлган чуқурчалар атрофидагина билан преципитация халқалари кузатилди. Бунда экспрементал қон доғларида тайёрланган турли хил рангдаги пахта матоларидаги қон сиқмаларнинг барчасида преципитация реакциялари яққол намоён бўлиб, бунда уларнинг бўёқлари иммунологик реакцияга салбий таъсир кўрсатгани кузатилмади. Худди шундай натижалар бошқа хилдаги тўқимачилик матоларда тайёрланган одам қони доғлари ҳамда ҳайвон ва қуш оқсилларини преципитацияловчи зардоблар билан текширувларида олинди.

Тажрибаларнинг иккинчи серияси 5 хил рангли ипак толали матоларда ўтказилди. Одам оқсилини преципитацияловчи зардоб киритилган пластинкаларнинг барчасида анологик антиген мавжуд бўлган чуқурчалар атрофида преципитация халқалари кузатилди. Бунда экспрементал қон доғларида тайёрланган турли хил рангдаги ипак толали матоларидаги қон сиқмаларнинг барчасида преципитация реакциялари яққол намоён бўлиб, уларнинг бўёқлари иммунологик реакцияга салбий таъсир кўрсатиши кузатилмади. Юқоридаги текширув натижалари, бошқа турдаги тўқимачилик матоларида тайёрланган одам ва ҳайвон қон доғларида ҳамда анологик оқсилларини преципитацияловчи зардоблар киритилган чуқурчаларда ҳам кузатилди.

Экспериментал тажрибаларнинг учинчи серияси беш хил рангдаги сунъий толали матода тайёрланган доғларда ўтказилди. Одам оқсилини преципитацияловчи зардоб киритилган пластинкаларнинг барчасида анологик антиген (одам қон доғи сиқмаси) бўлган чуқурчалар атрофида преципитация халқалари кузатилди. Турли хил рангдаги сунъий толали матоларда тайёрланган қон сиқмаларнинг барчасида преципитация реакциялари яққол намоён бўлиб, уларнинг бўёқлари иммунологик реакцияга салбий таъсири кузатилмади. Бошқа турдаги тўқимачилик матолардаги ҳайвон ва қуш қон доғлари сиқмаларидан тайёрланган антигенлар ёрдамида анологик преципитацияловчи иммун зардоблар билан ижобий натижалар кузатилди, аммо преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиши, пахта ва ипак толали матолардаги қон доғлари сиқмасидан тайёрланган антигенларга қараганда паст интенсивликда бўлганлиги кузатилди.

Текширувларнинг тўртинчи серияси беш хил рангдаги жун толали матода тайёрланган доғларда ўтказилди. Одам оқсилини преципитацияловчи зардоб киритилган пластинкаларнинг барчасида анологик антиген (одам қон доғи сиқмаси) бўлган чуқурчалар атрофида преципитация халқалари кузатилди. Тайёрланган қон сиқмаларнинг барча намуналарида преципитация реакциялари яққол намоён бўлиб, матонинг бўёқлари иммунологик реакция, яъни преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлишига салбий таъсир кўрсатмади. Мазкур текширувга монанд ҳолатдаги натижалар, бошқа турдаги тўқимачилик матоларда тайёрланган ҳайвон ва қуш қон доғларидаги сиқмалардан тайёрланган антиген намуналари билан анологик натижа олинди.

Шундай қилиб, турли хил рангдаги тўқимачилик матоларда жойлашган қон доғларининг тур мансублигини агар гелида ва антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия усули билан оқсил турини аниқлашда реакция натижаларига предмет ташувчининг салбий таъсир кўрсатмаслиги кузатилди. Аммо агар гелида 24 соат ичида 1:5000 нисбатда суюлтирилган антиген билан преципитация реакцияси кузатилган бўлса, худди шу муддатда антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакциясида – 1:20000 нисбатни ташкил қилди.

 Татқиқотлар, шунингдек, сочилувчи моддалар (тупроқ, қум, оҳак, албестер, цемент) билан ифлосланган қон доғлари намуналарида ўтказилди. Бунинг учун назорат ва экспериментал қон доғлари тайёрланди. Тўрт қаватли тоза дока матосида тайёрланган одам, ҳайвон (от, буқа, қўй) ва қуш қон доғлари намуналари юқорида санаб ўтилган сочилувчан моддалар билан ифлослантирилди. Шу тарзда тоза дока матоси физиологик эритмада намланиб, сочилувчан муддатлар билан ифлослантирилган назорат доғлар намуналари тайёрланди.

 Назорат синовлари қуйидаги тартибда олиб борилди. Аввалига одам ва ҳайвон қони оқсилига антитана-гел матрицали пластинкалар, шунингдек петри косачаларида агар гели тайёрланди. Одам оқсилини преципитацияловчи зардоб киритилган пластинка ва косачаларнинг чуқурчаларига тупроқ, қум, оҳак, албестер, цемент билан ифлосланган қон доғлари сиқмаси солинди. Олтинчи чуқурчага 2 мкл гомологик оқсил киритилди, бу ҳолатда одам қони зардоби 1:1000 нисбатда суюлтирилди. Иммунодиффузия хона ҳароратида 24 соат ичида амалга оширилди ва бўялди. Барча пластинкаларда гомологик оқсилли олтинчи чуқурчада преципитация ҳалқалари пайдо бўлди. Қолган барча чуқурчаларда преципитация ҳалқалари пайдо бўлиши кузатилмади. Ифлосланган предмет-ташувчилардан тайёрланган эритмалар билан ўтказилган назорат тажрибаларида манфий натижалар олинди.

 Асосий экпериментал тупроқ, қум, оҳак, албестер, цемент билан ифлосланган қон доғларининг тур мансублиги аниқланди. Одам қони оқсили мавжуд бўлган антитана-гел матрицали пластинка чуқурчаларига одам қон доғлари бўлган ва тупроқ, қум, оҳак, албестер, цемент билан ифлосланган дока ипларининг сиқмалари киритилди. Гомологик оқсилли барча бешта чуқурчада преципитация ҳалқалари пайдо бўлди. Аммо преципитация ҳалқалари контрастлиги турлича бўлди. Зеро, қум, албастер ва цемент билан ифлосланган қон доғлари намуналарининг сиқмаларидан тайёрланган антиген билан антитана-гел матрицасидаги чуқурча атрофидаги преципитация чизиғининг интенцив пайдо бўлиши кузатилди. Тупроқ ва оҳақ билан ифлосланган қон доғлари намуналарининг сиқмаларида эса, преципитация чиғиғининг паст интенсивликда ҳосил бўлиши аниқланди. Бизнинг фикримизча, бу аввалги тажрибадаги каби, преципитация чизиқларининг ҳосил бўлишида иштирок этувчи антигенларнинг турли миқдори ва ифлослантирилган моддаларнинг хусусиятлари билан боғлиқ бўғиши мумкин

Аниқландики, антигенларнинг энг кўп миқдори қум, алебастер ва цемент билан ифлосланган қон доғлари билан тайёрланган сиқмаларрида, энг кам миқдори – тупроқ ва оҳак билан ифлосланган қон доғларидан тайёрланган сиқмаларида кузатилди.

 Шундай қилиб, антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия усули ёрдамида қон доғларидаги оқсилнинг тур мансублигини ишончли аниқлаш мумкин. Антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия реакцияси носпецифик ҳалқалар ёки преципитация “чизиқ”ларини бермайди. Мазкур усул юқори спецификликка эга бўлиб, агардаги преципитация реакциясига нисбатан сезгирлиги. Антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакцияси ёрдамида жуда кичик ўлчамдаги ва ифлосланган қон доғларининг турга боғлиқ хусусиятларини аниқлаш мумкин, бу тадқиқот объектини тежаб қолиш имконини беради. Ушбу усулнинг қўлланилиши биологик ашёвий даллиллар экспертизасининг сифатини оширишга имконият беради. Антитана-гел матрицадаги радиал иммунодиффузия реакцияси қон оқсилларининг турга оид спецификлигини аниқлашда қўлланиладиган усуллар арсеналини кўпайтиради.

Сезгирликни аниқлашнинг ушбу принципи антиген эритмалари кўп миқдордаги аралашмаларида текширилгандагина ҳаққоний бўлади. Қайд этиш лозимки, ашёвий далилларни ўрганишда суд-тиббий эксперт тадқиқот объектидан тежамкорлик билан фойдаланишга интилади. Энг аввало, у тадқиқот объектининг минимал миқдорини сарф қилиб, юқори концентрацияга эга оқсил эритмасини олишга ҳаракат қилади.

Демак, усулнинг сезгирлиги нафақат эритмадаги оқсилнинг минимал концентрациясига, балки қон турини аниқлаш имконини берадиган антиген эритмасининг минимал миқдорига ҳам боғлиқ. Шу қоидага асосан, антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия усули суюқ муҳитдаги ҳалқали препитация реакцияси ва агардаги преципитация реакцияси сезгирлигини 10 мартагача оширади.

Юқорида кўрсатилган барча серияларда тадқиқот натижалари олинган преципитацияловчи иммун зардоблар ёрдамида агар гелида 24 соат ичида 1:5000 нисбатда суюлтирилган антиген билан преципитация реакцияси кузатилган бўлса, худди шу муддатда антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакциясида – 1:20000 нисбатни ташкил қилди.

Ушбу принцип бўйича иммун зардобларнинг сезгирлигини баҳолашда аниқландики, агар гелидаги преципитация реакцияси сезгирлиги жиҳатдан антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия усулига нисбатан паст сезгирликка эга.

**Хулоса:**

Антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакцияси қон оқсилларининг турга оид спецификлигини аниқлашда самарали усул саналади. Бу усулнинг қон турини аниқлашда ишончлилиги ва қайта такрорий амалга ошириш мумкинлиги кўрсатилди.

 Радиал иммунодиффузия оқсил турини аниқлашнинг оддий, юқори сезгирликка эга (0,05 мл қон сақловчи доғ доимо ижобий реакция беради), қулай ва осон бажариладиган усул саналади.

Шундай қилиб, предмет ташувчи турли хил тўқимачилик матолар антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия усули билан оқсил турини аниқлашда, реакция натижаларига таъсир кўрсатмаслиги аниқланди.

**VI БОБ. ПРЕЦИПИТАЦИЯЛОВЧИ ИММУН ЗАРДОБЛАРНИНГ СПЕЦИФИКЛИГИ ВА ЯРОҚЛИЛИК МУДДАТЛАРИНИ АНИҚЛАШ**

Диссертациянинг ушбу бобида преципитацияловчи зардобларнинг спецификлигини аниқлаш ва зардоб титрининг сақланиш муддатларини белгилаш натижалари баён этилган.

Одам оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 38 серияси, от оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 23 серияси, шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 55 серияси (шундан 28 серия буқа антигени билан, 27 серияси қўй антигени билан иммунизациялашдан кейин олинган зардоблар), товуқ оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 34 серияси текширилди.

Зардоблар тайёрланган кунда ва шу кундан бошлаб 9 ой ҳамда 12 ойдан кейин текширилди. Зардоблар 1:5000 ёки 1:10000 нисбатда гомологик антиген билан суюлтирилган антиген билан преципитация ҳалқаси 10 дақиқа давомида ҳосил бўлган бўлса, зардоблар ашёвий далиллардаги оқсилни тур мансублигини аниқлашга яроқли деб топилди. Янги тайёрланган зардобларнинг титри бошланғич титр деб қабул қилинди. Зардоблар 4-8С° ҳароратда сақланди. Кузатув 12 ой мобайнида олиб борилди. Ушбу вақтлар давомида кўпгина преципитацияловчи иммун зардобларнинг титри деярли ўзгармади. Барча ҳолатларда титр 1:5000 ёки 1:10000га тенг бўлиб қолди, фақат преципитация реакцияси давомида ҳалқанинг ҳосил бўлиш вақти ўзгарди, бу вақт янги тайёрланган зардобларга нисбатан кечроқ бошланди. 1:5000 ва 1:10000 нисбатда гомологик антиген билан суюлтирилган антиген билан преципитация ҳалқасининг ҳосил бўлиш вақтининг кечроқ бошланиши шартли равишда зардоб титрининг пасайиши деб аталди.

Янги тайёрланган одам оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 38 сериясида 1:10000 титрга эга бўлди, ҳалқали преципитация реакцияси 10 дақиқадан олдин пайдо бўлди. 9 ойдан кейин ушбу зардобларнинг 35 серияси (92,1%) ўз титрини сақлаб қолди. Зардобларнинг бир қисмида перципитат пайдо бўлиш вақти бир мунча секинлашган бўлсада, бу зардоблар суд-тиббий экспертиза амалиётида қўллаш учун яроқли бўлиб қолди; 3 серия (7,9%) амалиётда қўллаш учун яроқсиз деб топилди, чунки худди шу гомологик антиген суюлтирилган антиген билан реакцияга киришиш вақти кеч, 10 дақиқадан кейин бошланди.

Ушбу зардоблар 12 ойдан кейин текширилганда, зардобларнинг 29 сериясида (76,3%) бошланғич титр сақланганлиги, 9 сериясида (23,7%) камайганлиги ва амалиёт учун яроқсизлиги аниқланди.

Худди шу усулда бошқа 4 та зардоб тури текширилди. От оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 23 серияси текширилганда аниқландики, ушбу зардобнинг 18 серияси (78,3%) 3 ойда ҳам бошланғич титрини сақлаб турди. 12 ойдан кейин зардобларнинг 12 сериясида (52,2%) преципитинлар тиртрининг ўзгариши аниқланмади, 11 сериясида (47,8%) кольцепреципитация реакцияси 10 дақиқадан анча кеч бошланди, демак, охирги зардобларни суд-тиббий экспертиза амалиётида қўллаб бўлмайди.

6.3-расм. Преципитацияловчи иммун зардобларнинг титрининг ўзгаришини фоизларда кўрсатгичи

Шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 28 серияси (қуёнларни ҳўкиз антигени билан иммунизациялашдан кейин олинган) текширилганда аниқландики, 9 ойдан кейин зардоблар титри 26 серияда (92,9%) сақланиб турди, қолган 2 сериясида (7,1%) тиртнинг камайиши кейинчалик уни қўллаш учун яроқсиз ҳолга олиб келди. 12 ой сақлангандан кейин зардобларнинг 23 серияси (82,1%) титрни ўзгартирмади, қолган 5 сериянинг (17,9%) титри пасайди ва яроқсиз ҳолга келди.

Шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 27 серияси (қуёнларни қўй антигени билан иммунизациялашдан кейин олинган) титрининг сақланиши текширилди. Аниқландики, 9 ойдан кейин бу зардобларнинг 21 сериясидан (77,8%) , 12 ойдан кейин эса 17 сериясидан (62,9%) суд-тиббий экспертиза амалиётида фойдаланиш мумкин. Зардобларнинг қолган серияларии титрларининг пасайиши сабабли амалиётда қўллаш мумкин эмаслиги аниқланди.

Қуш (товуқ) оқсилини преципитацияловчи 34 сериядаги зардоблар титрининг сақланганлигини текшириш шуни кўрсатдики, товуқ оқсилини преципитацияловчи 34 сериядан, 9 ойдан кейин, бирортаси ҳам бошланғич титрини пасайтирмади, 12 ойдан кейин эса фақат 2 та серия (5,9%) титрини пасайтирди ва яроқсиз бўлди. Преципитацияловчи зардоблар сақланганлиги ҳақидаги маълумотлар 6.1- ҳамда 6.2-жадвалларда келтирилган.

6.1-жадвал

Олингагн преципитацияловчи иммун зардобларнинг 9 ойдан сўнг

титри ва спецификлигини текшириш натижалари

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Преципита-цияловчи иммун зардоблар | Олинган зардоблар серияси | Зардоблар титри | Яроқли сериялар | Преципитация вақти | Спецификлиги |
| 10 дақиқагача | 10 дақиқадан ортиқ |
| Одам | 38 | 1:100001:5000 | 269 | 2114 | 3- | С-к |
| Қуш | 34 | 1:100001:5000 | 2410 | 2113 | -- | С-к |
| От | 23 | 1:100001:5000 | 117 | 126 | 32 | С-к |
| Буқа | 28 | 1:100001:5000 | 215 | 197 | 11 | С-к |
| Қўй | 27 | 1:100001:5000 | 174 | 129 | 42 | С-к |

6.2-жадвал

Олингагн преципитацияловчи иммун зардобларнинг 12 ойдан сўнг

титри ва спецификлигини текшириш натижалари

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Преципита-цияловчи иммун зардоблар | Олинган зардоблар серияси | Зардоблар титри | Яроқли сериялар | Преципитация вақти | Спецификлиги |
| 10 дақиқагача | 10 дақиқадан ортиқ |
| Одам | 35 | 1:100001:5000 | 227 | 218 | 24 | С-кС-к |
| Қуш | 34 | 1:100001:5000 | 2210 | 1913 | 11 | С-кС-к |
| От | 18 | 1:100001:5000 | 84 | 66 | 25 | С-кС-к |
| Буқа | 26 | 1:100001:5000 | 167 | 149 | 12 | С-кС-к |
| Қўй | 22 | 1:100001:5000 | 134 | 125 | 23 | С-кС-к |

Демак, ўтказилган тадқиқот натижалари шуни кўрсатдики, шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардоблар (қуёнларни қўй ва ҳўкиз антигенлари билан иммунизациялашдан кейин олинган) титрни сақлашда қолган зардобларга нисбатан кам барқарорлиги аниқланди. Бу зардобларнинг кам барқарорлиги, эҳтимол, қўй ва ҳўкиз оқсиллари қуёнлар учун оқсилнинг бошқа турларига нисбатан кам фаолликка эга антиген қўзғатувчи эканлиги билан изоҳланади. Натижада бу зардоблар кам барқарорликка эга антитаналарни ишлаб чиқаради. 12 ой сақлангандан кейин зардоблар титри бўйича яроқсиз зардобларнинг анча сезиларли фоизи (55) ни ўрганилган ушбу турдаги зардоблар сирасига оқсилнинг яқин - қўй оқсилидан ҳўкиз оқсилини дифференциацияланувчи турлари киритилганлиги билан изоҳлаш мумкин. Бундан ташқари, шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардобларни тайёрлаш жараёнида, охиргилари яқин турдаги оқсиллар (қўй ёки ҳўкиз оқсиллари) билан абсорбцияланади. Бундай абсорбция натижасида нафақат гетерологик, балки қисман гомологик антитаналар ҳам ажралади, бу эса янги тайёрланган зардобларда ҳам преципитациянинг мусбат реакцияси анча кеч бошланишига ёрдам беради.

Товуқ оқсилини преципитацияловчи зардоблар титрни яхши сақлаши аниқланди. Бу, эҳтимол, товуқ оқсили қуён оқсилидан филогенетик нуқтаи назардан анча узоқда ва шу сабабли кучли антиген ҳисобланади ва турғун антитаналар чақиради. Бу зардоблар специфик саналади ва тайёрлаш учун абсорбцияни талаб этмайди. Демак, қўй ва ҳўкиз оқсилини преципитацияловчи зардоблар титри сақлаш жараёнида камроқ барқарорликга эга бўлди. Аксинча, товуқ оқсилини преципитацияловчи зардоблар анча барқарор бўлди ва 9 ойгача сақлаш мобайнида титри ўзгармади.

Шундай қилиб, титр барқарорлиги, ўтказилган тадқиқотларда, энг аввало, иммунизация учун олинган антиген турига боғлиқлиги аниқланди.Бундан ташқари тадқиқот жараёнида зардоблар титрининг тушиш жадаллиги асосан тўртта тип бўйича содир бўлади.

Биринчи типга товуқ оқсилини преципитацияловчи ва ўз титрини 9 ойгача сақлаб турувчи зардоблар киради; 12-ойга келиб жуда кам сонли сериялари (34 тадан 2 таси) титрини пасайтиради.

6.4-расм. Преципитацияловчи иммун зардоблар серияларининг кўрсатгичи

Иккинчи тип бўйича одам оқсилини преципитацияловчи зардоблар титри пасаяди. Жуда кам сонли зардоблар 9-ойга келиб титрини камайтиради; 12-ойда титри пасаядиган зардоблар серияси сони 2-3 баробар ортади.

От оқсилини преципитацияловчи зардоблар титри учинчи тип бўйича камаяди . Бу зардоблар турида титр пасайиши 12 ой мобайнида бир текисда кечади. Тўртинчи тип бўйича ўз титрини ўзгартирувчи (камайиши) зардоб шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардоб ҳисобланади. Бу турдаги зардобда титр пасайиши дастлабки 9 ойда жадал кечади.

Тадқиқотларимизнинг кейинги босқичида зардобларнинг сақланиш жараёнида титрларининг тушиб кетиш сабаблари аниқланди. Товуқ оқсилини преципитацияловчи зардоблар абсорбцияланмаслиги ва сақланиш жараёнида кўпроқ барқарорликга эга бўлиши сабабли, зардоблар абсорбциясида преципитинлар беқарорлигининг сабабини аниқлаш зарур деб топдик. Шу мақсадда титрнинг сақланиши специфик зардоблар тайёрлашда қўлланилган абсорбция миқдорига боғлиқлиги ўрганилди.

Аниқландики, одам оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 18 серияси тайёрланиш жараёнида гетерологик оқсилнинг 1 мартадан 4 мартагача қўшилиши натижасида абсорбцияланган. Ушбу зардоблар тайёрланганидан 3 ойдан кейин текширилганда қўлланилган абсорбция сонидан қатъий назар 10 сериясида (55,5%) якуний титр сақланганлиги, 8 сериясида (44,5%) эса пасайганлиги аниқланди. 6 ойдан кейин якуний титр 6 серияда (33,3%)сақланган, 12 серияда (66,7%) эса пасайганлиги аниқланган.

Ўтказилган тадқиқотлар худди шу тарзда текширилган от (23 серия) ва шохли ҳайвон (47 серия ) оқсилларини преципитацияловчи зардобларни тайёрлаш жараёнида умумий ҳисобда бир мартадан 4 мартагача абсорбциялаш натижасида олинган титрнинг пасайиши қўлланилган абсорбциялар сонига боғлиқ эмаслигини кўрсатди. Ушбу хулосани тасдиқлаш учун қуйидаги мисолни келтирамиз. Қуёнларни иммунизациялашда қўлланилган антигеннинг катта филогенетик фарқланиши натижасида товуқ оқсилини преципитацияловчи зардоблар спецификликга эга бўлади ва уларни тайёрлашда абсорбция талаб этилмайди. Аммо бу ҳолатда ҳам, уларни 9 ой мобайнида сақлаш жараёнида 4 та серияда реакциянинг бошланиш вақти янги тайёрланган зардобларникига нисбатан кечроқ бўлди, аммо 10 дақиқа атрофида; зардобларнинг 2 сериясида реакция бошланиши 10 дақиқадан кейин қайд этилган.

Иш жараёнида қайд этилдики, зардобларни сақлашда титрнинг барқарорлиги маълум даражада зардоб олинган қуённинг индивидуал хусусиятларига боҳлиқ бўлади. Қуёнлар редуцент бўлганлиги ва тадқиқот давомида 3 марта иммунизация ва реиммунизацияланганлиги сабабли қуёнлардан қайта олинган зардоблар титрининг сақланиши асосан доимий бўлди.

**Хулоса:**

 1. Олинган одам ва қуш (товуқ) оқсилларини преципитацияловчи иммун зардоблар 9 ой мобайнида амалиётда оқсилларнинг тур мансублигини аниқлаш учун яроқли ҳисобланади, аммо уларнинг титрини доимий равишда текшириб туриш зарур.

2. Шохли ҳайвонлар ва от оқсилларини преципитацияловчи зардоблар суд-тиббий экспертиза амалиётида 9 ой мобайнида қўлланилиши мумкин, фойдаланишдан олдин албатта текшириб кўриш зарур. Юқорида санаб ўтилган барча турдаги зардоблар титри сақланганда уларни 12 ой ва ундан кейин ҳам қўллаш мумкин.

3. Преципитацияловчи иммун зардоблар титрининг пасайиши уларни тайёрлашда қўлланилган абсорбция миқдорига боғлиқ бўлмайди.

**ХУЛОСА**

Биологик келиб чиқишга эга ашёвий далилларни суд-тиббий экспертизаси инсон ҳаёти ва фуқаролар саломатлигига қаратилган оғир жиноятларни очиш ва муваффақиятли тергов қилиш учун муҳим аҳамиятга эга ҳисобланади.Ҳозирги вақтда аксарият суд-тиббий экспертиза лабораторияларида ҳар қандай турдаги экспертиза текширувларини бажариш учун текшириладиган объектнинг алоҳида қисмларидан фойдаланилади. Бунда бирор бир турдаги биологик текширувларни ўтказувчи экспертлар томонидан бошқа турдаги таҳлилларни ўтказиш эҳтиёжи ва хусусиятлари инобатга олинмайди. Бундай ёндашув, эҳтимол, етарли миқдордаги биологик материал мавжудлигида жоиздир. Аммо, турли ашёвий далилларда аниқланадиган қон ва ажралма доғлари, одам тўқималари кўпинча кичик миқдорда учраб туради. Бундай ҳолатларда, биологик ашёвий далиллар суд экспертизасини тайинлашда, сўнгра қўшимча молекуляр-генетик экспертизани ўтказишда кўпроқ маълумот берувчи текширувлар учун биологик материал етмай қолиши мумкин. Иккинчидан, микрообъектларнинг фақат генетик тадқиқотларини ўтказиш доимо ҳам мақсадга мувофиқ эмас, чунки манфий натижалар олинганда бу нима сабабли юзага келганлиги ҳақидаги савол очиқлигича қолади: ДНК деградацияси сабаблими, синамаларни тайёрлаш пайтида материалнинг йўқотилиши ёки одамга тегишли бўлмаган объектнинг ўрганилиши сабабли ва ҳ.к.

Ашёвий далилларда биологик хусусиятга эга излар аниқланганда уларнинг турини аниқлаш, яъни уларнинг одам ёки ҳайвонга тегишлилигини текшириш зарур. Бундай текширувнинг ўтказилиши, биринчидан, воқеа тафсилотларида ашёвий далиллардаги объектларнинг нафақат одамга , балки ҳайвонларга ҳам тегишлилигини тахмин қилиш имконини бериши сабабли юзага келган бўлса, иккинчидан, излардаги доғларнинг гуруҳий мансублилигини аниқлаш зарурлиги сабабли юзага келади, бунда эса уларнинг тур мансублигини олдиндан аниқламасдан туриб ўтказилмайди.

Қон турини аниқлашнинг суд-тиббий экспертизаси шахсга қарши жиноятлар, ҳайвонот оламини қўриқлаш ва тиклаш, ундан оқилона фойдаланиш, давлат, кооператив ва шахсий мулк ҳисобланувчи ҳайвонларни ўғирлаш ва ноқонуний ўлдириш ишлари, чорвачилик, ов ва балиқчилик маҳсулотларини суиистеъмол қилиш, ҳайвонларни қийнаш билан боғлиқ жиноятларни очишда муҳим аҳамиятга эга [6, 8, 10].

Аммо суд-тиббиётига оид нашрлар маълумотлари шуни кўрсатадики, доғлардаги қоннинг тур мансублигини аниқлаш бўйича ижобий натижалар сони шундай текширувлар ўтказилган экспертизалар сонига нисбатан 90-92%ни ва қон излари топилган экспертизаларга нисбатан 84-89%ни ташкил қилади. Бу шуни англатадики, 11-16% суд-тиббий экспертизаларда у ёки бу сабабларга кўра қоннинг тур мансублик спецификлиги аниқланмаган [3]. Демак, бундай ҳолатларда қон экспертизаси ўз ечимига эга бўлмайди.

Қон доғлари мавжуд объектларда (мавжудлиги аниқлангандан кейин) унинг тур мансублиги преципитация усуллари ёрдамида аниқланиб таҳлил қилинади. Шу мақсадда ўтказилган суд-тиббий экспертиза хулосалари ва далолатномалар ўрганилди. Манфий натижалар частотасининг йил фаслларига боғлиқлиги, яъни ҳарорат омили билан боғлиқлиги ўрганилди, аниқланиш самарадорлиги (фоизларда) белгиланди.

Турли предмет-ташувчилардаги қон доғларини тур мансублигини аниқлаш бўйича олинган манфий натижаларнинг фоиз нисбатини аниқлаш учун Республика СТЭИАМ Тошкент вилояти филиалининг суд биология бўлимида ўтказилган 2014-2018 йиллардаги архив материаллари ретроспектив таҳлил қилинди.

Ретроспектив таҳлил натижалари шуни кўрсатдики, текшириш объектларининг умумий сони 41874 та, шундан 21646 объектда қон мавжудлиги аниқланган. Ушбу объектларни текширишда, қоннинг тур мансублигини аниқлаш учун 17468та объект текширувдан ўтказилган, шундан турга мансублик (одам қони) 16622 объектда (95,2%), ҳайвонлар қони 22 (0,1%) объектда аниқланган. Қолган 824 объектда (4,7%) қоннинг тур мансублиги умуман аниқланмаган. Бу кўпроқ қон излари металл ва ёғоч предметларда, шунингдек тупроқда бўлгандаги ҳолатларга тегишли бўлди.

Қайд этиш лозимки, аксарият ҳолатларда, РСТЭИАМ Тошкент вилоят филиалида преципитацияловчи иммун зардобларнинг йўқлиги сабабли доғларда қоннинг тур мансублилигини аниқлашнинг имкони бўлмаган. Ифлосланиш сабабли доғлардаги қоннинг тур мансублигини аниқлаш, предмет-ташувчининг хусусиятларининг ўзгариши ва объект сонининг камлиги сабабли, қон турини аниқлашнинг имконсизлиги экспертларни ушбу ҳолатга олиб келувчи сабабларни бартараф этиш чора-тадбирларини қидириб топишга ундайди.

Бугунги кунда биологик объектларнинг турини аниқлашда преципитация, иммунодиффузия, ҳамда жавоб тариқасидаги иммуноэлектрофорез реакцияларидан кенг фойдаланилади. Реакцияни амалга ошириш учун юқори титрга эга преципитацияловчи иммун зардоблар зарур бўлади. Одатда бундай зардоб ҳайвонларни бегона оқсил билан иммунизация қилиш йўли билан олинади. Бугунги кунга қадар такрорий иммунизация усули кенг қўлланилади. Паст реактивликга эга ҳайвонларда бу усулнинг самараси кам ва улар учун кучли қўзғатувчи зарур.

Аксарият иммунологик текшириш усуллари турли антигенлар билан иммунизацияланган ҳайвонлар қонидан олинадиган иммун зардоблар қўлланилишини кўзда тутади, бунда уларнинг фаоллиги тадқиқот натижаларига сезиларли таъсир кўрсатади. Зардоблар олиш учун ҳайвонларни иммунизациялашнинг рационал схемасини танлаш зарур. Бунда, энг аввало, антигенларнинг физик-кимёвий ҳолати, антиген киритилиш дозаси, усули, интерваллар ва киритиш сони, иммунизация циклининг давомийлиги, адъювантлар ва иммунмодуляторларнинг қўлланилиши назарда тутилади.

 Антитана ҳосил бўлишининг ҳайвонга киритиладиган антиген дозаларига боғлиқлиги ҳаммага маълум. Кичик дозалардаги антиген одатда етарлича иммунҳимоя таъсирни бермайди, жуда катта дозаларда эса – антитаналар титрининг пасайишига олиб келувчи иммунизатор толиқишни келтириб чиқаради. Антигеннинг катта дозаси киритилганда, паст аффинитетга эга антитаналар ҳосил бўлади ва уларнинг синтези узоқ муддат мобайнида давом этади. Дозани камайтириб, юқори аффин антитаналар ҳосил бўлишини пайдо қилиш мумкин [2].

Антитана ҳосил бўлишининг антиген киритилиш сонига боғлиқлигини ўрганиш натижалари бир марталикдан кўра кўп марталик иммунизация шубҳасиз афзалликка эгалигидан далолат беради. Иммуноген инъекциялари ўртасидаги интерваллар эмпирик йўл билан танланади, бунда тажрибалар натижалари одатда ушбу конкрет препаратга нисбатан қўлланилиши мумкин.

Антиген киритилиш усули ва ҳайвонлар қонидаги антитаналар миқдори ўртасида боғлиқлик мавжуд. Самарадорликни фарқлашнинг асосий сабаблари инъекция жойидан антиген тарқаладиган тезлик ва унинг лимфа тугунлари, ҳамда иммун тизимнинг бошқа органларидаан ўтиш эҳтимоллиги ҳисобланади [7].

Аксарият иммунологик текшириш усулларида ҳайвонлар қонидан олинадиган ва турли антигенлар билан иммунизацияланган иммун зардобларни қўллаш кўзда тутилган, бунда ушбу зардобларнинг фаоллиги текширув натижаларига сезиларли таъсир кўрсатади. Зардоб олиш учун ҳайвонларни иммунизациялашнинг рационал схемасини танлаш зарур, бу схема АГ нинг физик-кимёвий ҳолати, дозалари, усуллари, АГни юбориш интерваллари ва сонини, иммунизациялаш циклининг умумий давомийлиги, адъювантлар ва иммуномодуляторларни қўллашни кўзда тутади.

Юқорида баён этилганлардан келиб чиқиб, суд-тиббиётида қўллаш мақсадида одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи диагностик иммун зардобларни олиш методикасини ишлаб чиқиш режалаштирилди.

Қуёнлар иммунизациясини Л.И.Ломовицкая томонидан таклиф этилган (1977) ва Д.Д.Джалалов ҳамда Р.А.Хасанов (1997) томонидан модификацияланган схема бўйича амалга оширилди. Антиген қуён қулоғининг чекка венасига уч марта кунаро қуён массасига 1 мл/кг ҳажмда юборилди. Иммунизацияланган жониворлардан қон синамаси охирги инъекциядан 4, 7 ва 9 кундан кейин олинади. Қуёнлар қон зардобида 1:5000 ва 1:10000 титрга эга перципитинлар мавжудлигида юрак бўшлиғи пункцияси ва қон чиқариш ёрдамида қон олинди. Иммунизациядан кейин преципитацияловчи зардоблар титри ишчи титрга етмаса, охирги иммунизациядан 2 ҳафтадан кейин бир марталик антиген юбориш орқали реиммунизация ўтказилди.

Е.В.Алиева ва ҳаммуаллифларининг (2008) Фрейнд тўлиқ адъюванти билан АГни кетма-кет кўп нуқтали тери ичига юбориладиган схема бўйича қуёнларни иммунизациялашга уринишларида иммунизацияланган ҳайвонларнинг фақат 25-30%идагина иммун жавоб олинган, бунда иммунизация давомийлиги 2,5-3 ойни ташкил этган, қуёнларда эса адъювант касаллик ривожланган. Кейинчалик иммунмодулловчи модда сифатида антитана ҳосил қилувчи Т- ва В-ҳужайраларнинг яққол ифодаланган кўпайишини келтириб чиқарувчи феракрил (полиакрил кислотасининг темир тузлари (II, III) аралашмаси) қўлланилди. Иммунизация схемаси ўзгартирилди: грундиммунизация АГ аралашмаси билан феракрилнинг 3%ли сув-спирт эритмаси аралашмасининг беш марта кетма-кет 3-7 кун интервал билан парентерал юборишни ўз ичига олди. Иммунизациянинг асосий цикли ҳар 3-4 кунда АГ-АТ комплексининг томир ичи тўртта инъекцияларидан иборат бўлди. Иммунизациянинг бундай схемасида иммунологик реакцияларда юқори специфик фаолликга эга қуён гипериммун зардоблари олинди.

А.Г.Берзина ва ҳаммуаллифлари (2013) томонидан қуёнларнинг қулоқ четидаги венасига 1,0 мл ҳажмда 1:1 нисбатда Фрейнд адъюванти билан антиген эритмасини юбориб қуёнлар парентерал иммунизацияланди. Тери ости инъекциялари иккала томонлама ўтмас ўсиқ бўйлаб 8 нуқтада амалга оширилди, ҳар бир нуқтага 0,25 мл ҳажмда препарат юборилди. Муаллифлар томонидан таклиф этилган ҳайвонларни иммунизациялаш методикаси юқори титрли турга қарши антизардоблар олиш имконини беради.

Одам ва ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи зардобни олиш учун “Шиншилла” зотли қуёнлардан фойдаланилди. Ҳайвонларнинг иккала жинсида ҳам иммунизация ўтказилди. Қуёнларни иммунлаш антигени сифатида одам ва ҳайвонлар қони зардоби ҳамда 1%, 5% ва 10%ли формалин эритмасининг 1:1 нисбатдаги аралашмасидан фойдаланилди.

Одам қон зардоби ва 10%ли формалин эритмаси аралашмасини киритиш иммунизацияланган ҳайвонларнинг 60%идагина бирламчи иммунизациядан кейин иммун жавобни чақирди, қон зардоби ва формалиннинг 5%, эритмаси, ҳамда 1%ли формалин эритмаси юборилганда эса иммун жавобга эга ҳайвонлар фоизи мос равишда 40% ва 20% ни ташкил қилди. Зардоб ва 10%ли формалин эритмаси аралашмаси билан реиммунизациялашда 90% ҳолатда мусбат натижа олинган. Қон зардоби ва формалиннинг 5% ҳамда 1% ли формалин эритмаси юборилганда эса мусбат натижалар фоизи мос равишда 40% ва 20% ни ташкил қилди. Бунда иммунизация давомийлиги 22 кунни ташкил қилди, олинган преципитацияловчи зардоблар титри 1:5000 ва 1:10000 ни ташкил қилди, қуёнларда нобуд бўлиш ҳолати кузатилмади.

Б.С.Сенченко ва Н.Н.Гугушвили (2000) турга мансубликни аниқлашнинг перципитацияловчи зардобларини олиш учун қуёнга 0,3 мл янги қон тери остига юборишди ва 5 кундан кейин шу қуёнга яна 0,5 мл янги қон юборилди, кейин худди шу тарзда 0,7 ва 0,9 мл қон юборилди. Охирги тери ости инъекцияси ўтказилганидан 5 кундан кейин сон соҳаси мушак орасига 1 мл янги қон юборилди ва кейинги учта инъекция 1,5 мл дан мушак орасига 5 кун интервали билан юборилди. Преципитация реакцияси учун қўлланиладиган антизардоблар спецификликга эга бўлди, яъни қони ёрдамида гипериммунизация амалга оширилган ҳайвон тури зардоби билангина преципитат ҳосил қилинди.

Антигенлар биринчи марта киритилгандан кейин тажриба гуруҳларидаги ҳайвонларнинг ташқи кўриниши назорат гуруҳидаги ҳайвонларникидан фарқланмаган. Антигенлар иккинчи марта киритилганда ҳайвонларда иштаҳа ва ҳаракат фаолияти пасайганлиги қайд этилган. Учинчи марта киритилгандан кейин айрим ҳайвонларда инъекция жойида гиперемия пайдо бўлганлиги, юрак уриши тезлашгани қайд этилди.

Реиммунизациядан кейин тажриба жониворларининг ҳаракати назорат гуруҳидаги жониворларникига қараганда сустлиги сақланиб қолган, аммо ҳаракати ва ташқи кўринишида жиддий ўзгаришлар кузатилмаган.

Ҳайвонлардан қон олинган, сўнгра олинган зардоблар спецификлиги ва антитаналар титри аниқланган. Преципитацияловчи зардоблар титри 1:5000 ва 1:10000 бўлса, яъни зардоб 10000 марта суюлтирилган гомологик нормал зардобга қўшилганда 10 дақиқа ичида чўкма ҳосил бўлса ва 1000 марта суюлтирилган бошқа турдаги нормал изозардоблар билан бир соат ичида чўкмалар бермаса суд-тиббий тадқиқотлари учун яроқли саналади.

Ҳозирги вақтда адъювант таъсир кўрсатадиган ўнлаб органик ва анорганик табиатли моддалар маълум [12, 40].

Адъювантлари сифатида минерал бирикмалар (гидрат оксид ва алюминий фосфати геллари), полимер моддалар, мураккаб кимёвий аралашмалар (липополисахаридлар, оқсил-липополи­сахарид комплекслар, мурамилдипептид ва унинг ҳосилалари ва бошқалар); бактериялар ва бактериялар компонентлари (БЦЖ вакцинаси ажралмаси); липидлар ва эмульгато­рлар (ланолин, арлацел); яллиғлани реакциясини чақирувчи моддалар (сапонин, скипидар) ва бошқалар қўлланилади [12, 33].

Кўриниб турганидек, адъювантлар турли хил кимёвий таркибга ва келиб чиқиш табиатига эга, уларнинг ўхшашлиги шундаки, барчаси организм учун ёт модда бўлган ҳолда антигеннинг иммуногенлигини ошириш, иммуногенга гуморал жавоб даражасини ўзгартириш хусусиятига эга [34].

Адъювантлар соғлом организмда иммун жавобни кучайтиришда, вакцинацияда ва ҳайвонларни иммунизациялаш учун лаборатория амалиётида фойдаланилади. Ҳар қандай адъювантнинг энг муҳим жиҳати шундаки, ушбу моддалар антиген билан бирга киритилганда янада давомли ва кучли иммунитет яратади, вакцина токсиклигини пасайтиради ва вакцинация ўтказилган организмда антигенлар депосини яратади. Янги юқори самарали адъювантларни излаб топиш ва тадбиқ этиш ревакцинациялар сонини қисқартириш, организмга антиген юкламани камайтириш, вакцинация жараёнининг ўзини сезиларли осонлаштириш ва арзонлаштириш имконини беради [15, 27, 31].

Тажрибаларимизда вазни 3-3,5 кг бўлган Шиншилла ва Великан зотли иккала жинсдаги қуёнлардан фойдаланилган. Жониворлар “Экспериментал ва иммунологик тадқиқотларда лаборатория жониворлари билан ишлаш қоидалари ва усуллари” услубий қўлланмаси талабларига мувофиқ стандарт шароитларда сақланган. Қуёнларни иммунизациялашда антиген сифатида одам қони зардоби (1-гуруҳ), шохли мол (2-гуруҳ), парранда (3-гуруҳ), от (4-гуруҳ) ва формалиннинг 10%ли эритмасининг 1:1 нисбатдаги аралашмасидан фойдаланилди, аралашма музлатгичда 4-6°С да 72 соат мобайнида сақланди. Назорат сифатида ҳар бир гуруҳда 2 тадан қуён (жами 8 та қуён) иммунизацияси тегишли турдаги зардоблар ва 0,9%ли физиологик эритма билан амалга оширилди (5-гуруҳ).

Тадқиқот натижалари шуни кўрсатадики, антитаналар титри 2 та ҳолатда 1:10000 ва 4 ҳолатда 1:5000 га мос келган. 1-гуруҳда 3 та ҳолатда 1:5000 ва 1 ҳолатда 1:10000; учинчи гуруҳда бирорта ҳам ҳолатда 1:10000 титри бўлмади, 3 ҳолатда 1:5000 га мос келди; тўртинчи гуруҳда (назорат) 1 ҳолатда антитаналар титри 1:1000 ва 4 ҳолатда 1:100 га мос келди, бу зардоблар эса суд-тиббий экспертиза амалиётида қўллашга яроқсиз ҳисобланади.

Аниқландики, барча олинган преципитацияловчи зардоблар ишчи титрлар билан специфик бўлди, яъни 1:1000 нисбатда 1 соат мобайнида преципитация реакцияси тегишли турдан ташқари бошқа антигенлар билан содир бўлмади.

10%ли формалиннинг иммунстимулловчи таъсиридан фойдаланиш натижасида иммунизация жараёнининг давомийлиги сезиларли қисқарди (22 кун) ва юқори специфик зардоб олинди, бунда ҳайвонларда антитана ҳосил бўлишининг кучайиши ва меҳнат харажатларининг камайиши ҳисобига кутилаётган маҳсулотнинг чиқиши ортади. Шунингдек қайд этиш лозимки, бир марталик реиммунизациядан кейин 90-95% ҳолатда мусбат натижалар фоизини кўпайтиришга эришилди.

Одам ва ҳайвонларнинг формалин ёрдамида ишлов берилган зардоб оқсиллари билан қуёнларни иммунлаш юқори тиртга ва спецификликга эга преципитацияловчи зардоблар олиш имконини беради. Юқори реакцион хусусиятга эга формалин зардоб билан аралаштирилганда зардоб оқсилари билан реакцияга киришади ва етарлича йирик ўлчамли ҳамда гидролитик ферментлар таъсирига барқарор молекуляр комплекслар ҳосил бўлишига олиб келади.

Шундай қилиб, тадқиқот натижаларига кўра, оқсил антигенларининг 10%ли формалин эритмаси билан оптимал комбинациясига асосланган ва 90-95% ҳайвонда юқори иммун жавобни таъминлайдиган, иммунизация муддатлари, моддий ва меҳнат сарф-харажатларини сезиларли қисқартириш имконини берадиган гетероген зардоблар олишнинг янги самарали ёндошувлари ишлаб чиқилди.

Олинган иммун преципитацияловчи зардоблар юқори специфик саналади ва суд тиббиёти амалиётида қўллаш учун яроқли ҳисобланади.

Суд-тиббий серологияда одам ва ҳайвонлар организмининг генетик бириктирилган структураларигина қўлланилади. Физиологик индивидуаллик замирида юзага келадиган индивидлараро ўзгарувчанлик ҳозирча суд-тиббий серологияда қўлланилмайди. Ваҳоланки, инсонлардаги кимёвий таркибнинг кўплаб кўрсаткичлари шунчалик хилма хилликка эга-ки, бу махсус суд-тиббий мақсадларда, хусусан серологик усул ёрдамида ўрганилиши мумкин.

Аммо ушбу масалани ҳал этишнинг илмий ва амалий тартибидаги қийинчиликлар кўлами каттадир. Аксинча, генетик аппарат бузилиши сабабли юзага келган патология суд-тиббий ишланмалар учун кўпроқ истиқболли саналади. Қондаги айрим ҳолатлар молекула хоссаларининг ўзгаришига (мисол учун, аномал гемоглобинлар) олиб келувчи ген мутацияларига боғлиқ бўлади. Бундан келиб чиқадики, генетик детерминацияланган структуралар яқин келажакда суд-тиббий серологиясининг муҳим объектлари бўлиб қолади. Эҳтимол, мана шу хулосага мувофиқ суд-тиббий серологиясининг ривожланиш истиқболига ёндашиш зарур.

Қон турини аниқлашнинг суд-тиббий экспертизаси шахсга қарши жиноятлар, ҳайвонот оламини қўриқлаш ва тиклаш, ундан оқилона фойдаланиш, давлат, кооператив ва шахсий мулк ҳисобланувчи ҳайвонларни ўғирлаш ва ноқонуний ўлдириш ишлари, чорвачилик, ов ва балиқчилик маҳсулотларини суиистеъмол қилиш, ҳайвонларни қийнаш билан боғлиқ жиноятларни очишда муҳим аҳамиятга эга.

Бундай экспертизанинг энг кўп кузатиладиган объектлари - қон ва унинг таркибий маҳсулотларининг излари ҳисобланади. Бу объектлар ҳайвон турини янада аниқроқ аниқлашда ёрдам берувчи бошқа ашёвий далиллар (мисол учун, соч, пат, суяклар) билан уйғунлашадиган экспертизалар камдан кам. Шу билан бирга экспертиза ўтказиш тўғрисидаги қарорлар ва ажримларда қоннинг турини аниқлашга оид саволлар, одатда, аниқ қўйилган бўлади.

Бугунги кунда иммунизация инфекцияларни олдини олишнинг энг самарали воситаси ва тиббиётнинг энг муҳим ютуғи ҳисобланиши исботланган. XXI асрда янги вакциналар, шу жумладан тирик векторлар, ДНК-вакциналар, рекомбинант вакциналар ва уларни ишлаб чиқариш технологиялари пайдо бўлди (Медяник Е.Н.).

Бугунги кунда биологик объектларнинг турини аниқлашда кенг қўлланиладиган реакцияга преципитация, иммунодиффузия, ҳамда жавоб тариқасидаги иммуноэлектрофорез киради. Тадқиқотчилар ушбу реакциядан амалиётда фойдаланиш қулай бўлиши учун қатор сезиларли қўшимчалар киритишди. Ушбу реакциялар қон зардобининг 1:10000 нисбатдаги аралашмасида қон турини аниқлаш имконини беради .

В.П.Ольховик ҳамда В.В.Томилин ва бошқалар биологик объектларнинг турини аниқлаш учун ацетат целлюлоза пардасида (АЦП) жавоб иммуноэлектрофорез усулини таклиф этишди, бу усул сўнгги пайтларда суд тиббиёти амалиётида кенг қўлланилмоқда.

Тадқиқотлар натижасида аниқландики, суюқ муҳит ва агарли гелдаги радиал иммундиффузия, кольцепреципитация реакциялари сезгирлиги нормал зардобнинг максимал даражада эришини, оқсил тури ушбу усуллар билан аниқланиши мумкин эмас. Аммо бу, энг аввало преципитацияловчи зардоблар титрини тавсифлайди. Тадқиқотларда преципитацияловчи зардоблар титри, қўлланилган кольцепрепитация реакциясида 1-дақиқада 1:10000 ташкил қилди, агарда преципитация реакциясида 24 соат ичида – 1:5000, худди шу муддатда антитана-гел матрицадаги радиал иммунодиффузия реакциясида – 1:20000. Бу принцип бўйича сезгирликни баҳолашда аниқландики, суюқ муҳитдаги кольцепреципитация ва агардаги преципитация реакциялари сезгирлиги жиҳатдан антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия усулига тенг келмайди.

Усулнинг сезгирлиги нафақат эритмадаги оқсилнинг минимал концентрациясига, балки қон турини аниқлаш имконини берадиган антиген эритмасининг минимал миқдорига ҳам боғлиқ. Шу қоидага асосан, антитана-гелли матрицадаги радиал иммунодиффузия усули суюқ муҳитдаги кольцепрепитация реакцияси ва агардаги преципитация реакцияси сезгирлигини 10 мартагача оширади.

Юқорида баён этилган методика бўйича антитана-гел матрицали пластинкалар тайёрланди. Жами бўлиб 45 та қон изи текширилди, шундан 9 таси - одамга, 9 – от, 18 – шохли ҳайвон, 9 – паррандага тегишли бўлди.

Иммунодиффузия хона ҳароратида 1 кеча кундуз давомида амалга оширилди. Сўнгра гелли пластинкалар амид-қора 10В билан бўялди. Барча чуқурчаларда, назорат чуқурчасидан ташқари, преципитация ҳалқалари пайдо бўлди. Аммо преципитация ҳалқалари контрастлиги турлича бўлди. Бизнинг фикримизча, бу преципитация ҳалқаларининг ҳосил бўлишида иштирок этувчи антигенларнинг турли миқдори билан боғлиқ.

Антитана-гел матрицасида радиал иммунодиффузия реакцияси ёрдамида қон оқсилларининг турга оид спецификлигини аниқлаш мумкинлиги исботланди. Антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакцияси носпецифик ҳалқалар ёки преципитация “пих”ларини бермайди.Бу усул юқори специфик ва агардаги преципитация реакцияларига нисбатан бир неча баробар сезгир. Антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакцияси ёрдамида жуда кичик ўлчамдаги қон доғларининг турга боғлиқ хусусиятларини аниқлаш мумкин, бу тадқиқот объектини тежаб қолиш имконини беради. Шунингдек, қон оқсилларининг турга оид спецификлигини аниқлашда реакция ўтказишнинг оптимал шароитлари ишлаб чиқилган. Ушбу усулнинг қўлланилиши биологик асосга эга ашёвий даллилларнинг экспертиза сифатини ошириш имконини беради. Антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия реакцияси қон оқсилларининг турга оид спецификлигини аниқлашда қўлланиладиган усуллар арсеналини кўпайтиради.

Сўнгги йилларда иммун (преципитацияловчи, агглютинацияловчи) зардоблар суд-тиббий экспертиза лабораторияларида кенг қўлланилмоқда. преципитацияловчи иммун зардоблар доғлардаги оқсил турини аниқлашда кенг қўлланилади.

Иммун зардоблар одатда, қисқа муддатли спецификликга эга бўлганлиги сабабли, пробиркаларда зардобларни титрлашнинг кенг тарқалган методикасини қўллаб бўлмайди.

Зардоблар тайёрланган кунда ва сақлангандан 9 ҳамда 12 ойдан кейин текширилди. 1:10000 нисбатда эритилган гомологик антигенли кольцепреципитация реакцияси 10 дақиқада бошланган зардоблар ашёвий далилаларда оқсилни тур мансублигини аниқлашга яроқли деб топилди.

Одам оқсилини преципитацияловчи янги тайёрланган зардобларнинг 38 серияси 1:10000 титрга эга бўлди, кольцепреципитация реакцияси 10 дақиқадан олдин пайдо бўлди. 9 ойдан кейин ушбу зардобларнинг 35 серияси (92,1%) ўз титрини сақлаб турди. Зардобларнинг бир қисмида перципитат пайдо бўлиш вақти бир мунча секинлашган бўлсада, бу зардоблар суд тиббиёти амалиётида қўллаш учун яроқли бўлиб қолди; 3 серия (7,9%) амалиётда қўллаш учун яроқсиз деб топилди, чунки худди шу эритилишда гомологик антиген билан реакцияга киришиш вақти кеч, 10 дақиқадан кейин бошланган.

Ушбу зардоблар 12 ойдан кейин текширилганда зардобларнинг 29 сериясида (76,3%) бошланғич титрини сақланганлиги, 9 сериясида (23,7%) камайганлиги ва амалиёт учун яроқсизлиги аниқланди.

Худди шу усулда бошқа 4 та зардоб тури текширилди. От оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 23 серияси текширилганда аниқландики, ушбу зардобнинг 18 серияси (78,3%) 9 ойда ҳам бошланғич титрини сақлаб турди. 12 ойдан кейин зардобларнинг 12 сериясида (52,2%) преципитинлар тиртрининг ўзгариши аниқланмади, 11 сериясида (47,8%) кольцепреципитация реакцияси 10 дақиқадан анча кеч бошланди, демак, охирги зардобларни суд-тиббий экспертиза амалиётида қўллаб бўлмайди.

Шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 28 серияси (қуёнларни ҳўкиз антигени билан иммунизациялашдан кейин олинган) текширилганда аниқландики, 9 ойдан кейин зардоблар титри 26 серияда (92,9%) сақланиб турди, қолган 2 сериясида (7,1%) тиртнинг камайиши кейинчалик уни қўллаш учун яроқсиз ҳолга олиб келди. 12 ой сақлангандан кейин зардобларнинг 23 серияси (82,1%) титрни ўзгартирмади, қолган 5 сериянинг (17,9%) титри пасайди ва яроқсиз ҳолга келди.

Шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардобларнинг 27 серияси (қуёнларни қўй антигени билан иммунизациялашдан кейин олинган) титрининг сақланиши текширилди. Аниқландики, 9 ойдан кейин бу зардобларнинг 21 сериясидан (77,8%), 12 ойдан кейин эса 17 сериясидан (62,9%) суд-тиббий экспертиза амалиётида фойдаланиш мумкин. Зардобларнинг қолган сериялари титрларининг пасайиши сабабли амалиётда қўллаш мумкин эмаслиги аниқланди.

Парранда оқсилини преципитацияловчи 34 сериядаги зардоблар титрининг сақланганлигини текшириш шуни кўрсатдики, товуқ оқсилини преципитацияловчи 34 сериядаги зардоблар 9 ойдан кейин бирортасида ҳам бошланғич титрини пасайтирмади, 12 ойдан кейин эса фақат 2 та серия (5,9%) титрини пасайтирди ва яроқсиз бўлди. Преципитацияловчи зардоблар сақланганлиги ҳақидаги маълумотлар келтирилган.

Шундай қилиб, ўтказилган тадқиқот натижалари шуни кўрсатдики, шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардоблар (қуёнларни қўй ва ҳўкиз антигенлари билан иммунизациялашдан кейин олинган) титрни сақлашда қолган зардобларга нисбатан кам барқарорлиги аниқланди. Бу зардобларнинг кам барқарорлиги, эҳтимол, қўй ва ҳўкиз оқсиллари қуёнлар учун оқсилнинг бошқа турларига нисбатан кам фаолликка эга антиген қўзғатувчи эканлиги билан изоҳланади. Натижада бу зардоблар кам барқарорликга эга антитаналарни ишлаб чиқаради. 9 ой сақлангандан кейин зардоблар титри бўйича яроқсиз зардобларнинг анча сезиларли фоизи (55) ўрганилган ушбу турдаги зардоблар сирасига оқсилнинг яқин - қўй оқсилидан ҳўкиз оқсилини дифференциацияланувчи турлари киритилганлиги билан изоҳлаш мумкин. Бундан ташқари, шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардобларни тайёрлаш жараёнида, охиргилари яқин турдаги оқсиллар (қўй ёки ҳўкиз оқсиллари) билан абсорбцияланади. Бундай абсорбция натижасида нафақат гетерологик, балки қисман гомологик антитаналар ҳам ажралади, бу эса янги тайёрланган зардобларда ҳам преципитациянинг мусбат реакцияси анча кеч бошланишига ёрдам беради.

Товуқ оқсилини преципитацияловчи зардоблар титрни яхши сақлаши аниқланди. Бу, эҳтимол, товуқ оқсили қуён оқсилидан филогенетик нуқтаи назардан анча узоқдалиги, шу сабабли энг самарали антиген ҳисобланади ва турғун антитаналар чақиради. Бу зардоблар специфик саналади ва тайёрлаш учун абсорбцияни талаб этмайди. Демак, От ва шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи зардоблар титрини сақлаш жараёнида камроқ барқарорликка эга бўлди. Аксинча, товуқ оқсилини преципитацияловчи зардоблар анча барқарор бўлди ва 9 ойгача сақлаш мобайнида титри ўзгармади.

Ўтказилган тадқиқотлар шуни кўрсатдики, титр барқарорлиги, энг аввало, иммунизация учун олинган антиген турига боғлиқлиги аниқланди. Бундан ташқари тадқиқот жараёнида зардоблар титрининг тушиш жадаллиги асосан тўртта тип бўйича содир бўлади.

Биринчи типга товуқ оқсилини преципитацияловчи ва ўз титрини 9 ойгача сақлаб турувчи зардоблар киради; 12-ойга келиб жуда кам сонли сериялари (34 тадан 2 таси) титрини пасайтиради.

Иккинчи тип бўйича одам оқсилини преципитацияловчи зардоблар титри пасаяди. Жуда кам сонли зардоблар 9-ойга келиб титрини камайтиради; 12-ойда титри пасаядиган зардоблар серияси сони 2-3 баробар ортади.

Шохли ҳайвон оқсилини преципитацияловчи иммун зардоблар титри учинчи тип бўйича камаяди. Бу зардоблар турида титр пасайиши 9 ой мобайнида бир текисда кечади. Тўртинчи тип бўйича ўз титрини ўзгартирувчи (камайиши) зардоб от оқсилини преципитацияловчи зардоб ҳисобланади. Бу турдаги зардобда титр пасайиши дастлабки 9 ойда жадал кечади.

Шундай қилиб, олинган одам ва қуш (товуқ) оқсилларини преципитацияловчи зардоблар 12 ой мобайнида амалиётда оқсил турини аниқлаш учун яроқли ҳисобланади, аммо уларнинг титрини доимий равишда текшириб туриш зарур. Шохли ҳайвонлар ва от оқсилларини преципитацияловчи зардоблар суд-тиббий экспертиза амалиётида 9 ой мобайнида қўлланилиши мумкин, фойдаланишдан олдин албатта текшириб кўриш зарур. Юқорида санаб ўтилган барча турдаги зардоблар титри сақланганда уларни 12 ой ва ундан кейин ҳам қўллаш мумкин.

**ХУЛОСАЛАР**

1. Доғларда қоннинг тур мансублигини аниқлаш бўйича кўпроқ манфий натижалар йилнинг биринчи (26,5%) ва иккинчи (25,7%) чоракларига, яъни қиш-баҳор мавсумларига тўғри келади. Улар барча манфий ҳолатнинг52,2% ни ташкил қилади. Йилнинг учинчи (23,2%) ва тўртинчи (24,6%) чоракларида, яъни ёз-куз мавсумларида, манфий натижалар (47,8%) камроқ кузатилади, бунда доғлардаги қоннинг тур мансублиги аниқланмаган.

2. Формалиннинг 10% эритмаси оқсил антигенлари билан оптимал комбинацияси асосида преципитацияловчи иммун зардобларни ишлаб чиқишнинг янги самарали ёндошувларини, 90-95% ҳолатларда преципитацияловчи специфик иммун зардоблар олишга, иммунизация муддатларини, моддий ва меҳнат харажатларини сезиларли қисқаришига эришилди.

Олинган преципитацияловчи иммун зардоблар юқори специфик бўлиб, суд-тиббиёти амалиётида қўллаш мақсадида яроқли ҳисобланади.

3. Радиал иммунодиффузия реакцияси юқори спецификликка ва суюқ муҳитдаги ҳалқали ва агардаги преципитация реакцияларига нисбатан сезгирликка эга. Радиал иммунодиффузия реакцияси ёрдамида жуда кичик ўлчамдаги ва турли тўқимачилик матоларда жойлашган қон доғларининг турга мансублигини аниқлаш, ҳамда тадқиқот объектини тежаш имконини беради.

4. Олинган одам ва қуш оқсилларини преципитацияловчи зардоблар 12 ой давомида амалиётда оқсил турини аниқлаш учун яроқли ҳисобланади, аммо уларнинг титрини доимий равишда текшириб туриш зарур. От ва шохли ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи зардоблар суд-тиббий экспертиза амалиётида 9 ой мобайнида қўлланилиши мумкин, фойдаланишдан олдин албатта текшириб кўриш зарур. Юқорида санаб ўтилган барча турдаги зардобларнинг титри сақланганида, уларни 9-12 ой давомида ва ундан кейин ҳам қўллаш мумкин.

**АМАЛИЙ ТАВСИЯЛАР**

1. Юқори титрга эга специфик иммун преципитацияловчи зардоблар олишда қуёнларни иммунизациялашда антиген сифатида одам ёки ҳайвон қон зардоблари ва 10% формалин эритмасининг 1:1 нисбатдаги аралашмасидан фойдаланиш тавсия этилади.

2. Ашёвий далиллардаги оқсилнинг тур мансублигини аниқлашда суюқ муҳитдаги ҳалқали ва агардаги преципитация реакцияларидан кўра сезгирлик жиҳатдан антитана-гел матрицасидаги радиал иммунодиффузия усули юқори сезгирлигини ҳисобга олиш зарур.

3. Қуш (товуқ) ва одам оқсилларини преципитацияловчи иммун зардоблар 12 ой мобайнида амалиётда оқсил турини аниқлашда қўллаш мумкин, от ва шохли ҳайвон оқсилларини преципитацияловчи зардоблар 9 ой мобайнида қўлланилиши мумкин, фойдаланишдан олдин албатта текшириб кўриш зарур.

**ШАРТЛИ ҚИСҚАРТМАЛАР РЎЙХАТИ**

АГ – антиген

АТ – антитана

АЦП – ацетат целлюлоза пардаси

ИЛ - интерлейкин

ИФР - иммунофлюо­ресценция реакцияси

ИФТ – иммунофермент таҳлил

ЛЗ - люминесценцияловчи зардоблар

ПЗР – полимераза занжир реакцияси

СТЭ – суд-тиббий экспертизаси

ТИТ – табиий-илмий систематика

ФИТЦ - флюоресцеинизотиоцианатом

Ig – иммуноглобулин

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абдуллаев Б.С. Использование метода хроматографии для одновременного определения наличия и группы крови в следах: Автореф. дис… канд. мед. наук. – М., 1984. - С. 19.
2. Авдеева Ж.И. и др. Иммуноадъювантный эффект цитокинов //Тихоокеанский медицинский журнал. 2009. № 3. –С. 19-22.
3. Александрова В.Ю. Иммунологические методики в комплексном анализе микрообъектов судебно-биологической экспертизы: Автореферат дисс… канд.мед.наук. М., 2008. 18 с.
4. Алексеев Ю.Д., Савенкова Е.Н. Общие принципы постановки реакции иммунофлюореценции для определения видовой принадлежности изолированных клеток животного происхождения //Ж. Иммунолгия. 2013. №5. –С. 55-59.
5. Алиева Е.В., Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н. Разработка схем иммунизации животных кампилобактериозными и листериозными антигенами //Вестник Российской военно-медицинской академии. – СПб., 2006. – Приложение 1 (15). –С. 192.
6. Алиева Е.В., Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н. и др. Опыт получения иммунных сывороток для производства диагностических препаратов //Курский научно-практический вестник. «Человек и его здоровье». 2008, - №1. - С. 11-15.
7. Анастасьев В.В.,Короткова Т.В., Крайнова Т.А., Ефремова Л.М. Разработка производственной технологии получения иммуноглобулина для внутривенного введения нового поколения – имбиоглобулина. Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний: матер. науч. конф., посв. 75-летию Нижегородского НИИЭМ. – Н. Новгород: изд-во НГУ им. Н.И. Лобачевского, 2004. – С. 332–340.
8. Аушева З.И., Цолоева З.А. Модификация реакции абсорбции-элюции при исследовании загрязненных биологических объектов //Судебно-медицинская экспертиза. - 2003. - №1. - С. 15-16.
9. Афанасьев Е.Н., Ефременко В.И., Тюменцева И.С и др. Способ сорбции иммунной сыворотки крови //Патент на изобретение №2200324 от 10.03.2003 г.
10. Афанасьев Е.Н., Тюменцева И.С. Разработка новых подходов к получению гипериммунных сывороток для производства медицинских иммунобиологических препаратов //Проблемы особо опасных инфекций, вып. 103, 2010. С. 67-69.
11. Ахматова Н.К., Лебединская О.В. и др. Уровень цитокинов в сыворотках мышей при мукозальной иммунизации антигенами условно патогенных микроорганизмов //Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2012. №3(85). -С. 253-256.
12. Бабкин, М.В., Стегний Б.Т., Бабкин М.В. и др. Способ получения гипериммунной антирабической сыворотки //Патент № 19403 UA, МПК А61К 39/205; 15.12.2006.
13. Баринский И.Ф., Лазаренко А.А., Алимбарова Л.М. Изучение эффективности использования отечественных иммуномодуляторов, а также сочетанного их действия со специфическими вакцинами при экспериментальных арбовирусных инфекциях //Иммунология. 2012. №4. –С. 181-183.
14. Барсегянц Л.О. Современное состояние судебно-медицинского исследования вещественных доказательств и пути развития //Судебно-медицинская экспертиза, 2004, №5, - С. 25-27.
15. Барсегянц Л.О. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств. М., Медицина, 2005, 447 с.
16. Беляева Е.Н., Ясинского А.А. Безопасность иммунизации //Москва, 2005. – 35 с.
17. Берзина А.Г., Гамалея Н.Б., Капанадзе Г.Д. Методические подходы к получению антивидовых антисывороток с целью их использования в иммунофармакологических исследованиях //Биомедицина, 2013, №2, -С. 95-102.
18. Бронникова М.А. и др. Особенности судебно-биологической экспертизы следов крови малой величины //Методические рекомендации. ВНИИ МВД СССР М., 1988, 78 с.
19. Булашев А.К., Серикова Ш.С. и др. Получение антител против иммуноглобулинов человека для иммуноферментного анализа //Вестник Наука. 2016. -№1 (88). –С. 4-14.
20. Бураго Ю.И. Материалы к идентификации и дифференциации некоторых антигенных и сывороточных факторов в смешанных следах крови человека и ряда животных. Автореферат дисс… д.м.н. М., 1998.
21. Бураго Ю.И. Некоторые аспекты методологии и методики судебно-медицинской экспертизы смешанных следов крови человека и животных // Материалы 3-го Всероссийского съезда судебных медиков. Саратов, 1992. Вып-2. С. 234-236.
22. Власов, В.В. Введение в доказательную медицину //М., 2001. - 392 с.
23. Гаврилова, Н.А. и др. Регулирование обращения препаратов гетерологичных сывороток и иммуноглобулинов для профилактики и лечения инфекционных заболеваний в современных условиях //Достиженияв областиобеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия государствах-участниках СНГ в рамках реализации стратегии ВОЗ по внедрению ММСП (2005 г.) до 2016 года: матер. меж.госуд. науч.практ. конф. –Саратов, 2016. –С. 60–62.
24. Гамалея Н.Б., Берзина А.Г. Вакцины от наркотиков - новое перспективное направление профилактики злоупотребления ПАВ. //Биомедицина. 2011. №10. С. 70-83.
25. Григорьев И.П., Коржевский Д.Э. Современные технологии фиксации биологического материала, применяемые при проведении иммуногистохимических исследований //СТМ. 2018. – Том 10. №2. -С. 156-165.
26. Гуртовая С.В. К вопросу о возможном влиянии различных моющих средств на определение видовой и групповой принадлежности крови. //Сборник работ врачей судебно-медицинских экспертов биологов. РЦСМЭ МЗ РФ М., 2007. -С. 16-19.
27. Гуртовая С.В., Маяцкая М.В. Определение антигенов с помощью карточек «скангель» //Судебно-медицинская экспертиза. 2001. №4, -С. 39-40.
28. Гуртовая С.В. Применение обти-теста для определения наличия и вида крови в пятнах //Судебно-медицинская экспертиза. 1999. №5. -С. 23-25.
29. Джалалов Д.Д., Айдаркулов А.Ш. Определение видовой специфичности белков крови методом радиальном иммунодиффузии в геле //Судебно-медицинская экспертиза. 1982. №2. -С. 36-37.
30. Джалалов Д.Д., Р.А.Хасанов. Способ получения преципитирующих сывороток //Расмий ахборотнома. 1997. №1, -С. 61.
31. Дмитриченко М.И. Экспертиза качества и обнаружения фальсификации продовольст­венных товаров. СПБ.; Питер, 2003.
32. Дыкман, Л.А. и др. Золотые наночастицы: синтез, свойства и биомедицинские применения. – М.: Наука, 2008. – 318 с.
33. Дьякова С.П., Криворучко С.В., Гнездилова Л.А. Иммуностимулирующие свойства препарата «СТЭМБ» при комплексной вакцинации овец. //Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2004. -С. 27-29.
34. Змачинская, Т.Б. Оптимизация технологической схемы получения препаратов иммуноглобулинов для внутримышечного введения. //Вестник Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. 2001. –№ 1. –С. 70–73.
35. Иванов П.Л., Клевно В.А. Судебно-биологическая экспертиза реалии и перспективы. //Судебно-медицинская экспертиза. 2008. №1, С. 19-24.
36. Исаенко Е.Ю., Бабич Е.М., Елисеева И.В. и др. Aдъюванты в современной вакцинологии //ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И.И.Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины». 2013. №4***.*** –С. 5-21.
37. Карякин В.Я. Влияние ретикулоэндотелиальной системы на выработку преципитинов //Дисс… канд. мед. наук. Саратов, 1950.
38. Кишкун, А.А. Иммунологические и серологические исследования в клинической практике. - М., 2006. - 536 с.
39. Кожевникова Т.Н., Ворович М.Ф., Козлов В.Г., Ожерелков С.В., Наровлянский А.Н., Пронин А.В., Санин А.В. Использование фоспренила при изготовлении гипериммунных сывороток //Российский ветеринарной журнал. Мелкие домашние и дикие животные. 2006; №2. -С. 8-10.
40. Козлов В.Г., Хапчаев Ю.Х.. Ишмухаметов А.А. Применение препаратов Имунофан, Полиоксидоний, Ронколейкин, Сальмозан и Фоспренил для потенцирования гуморального иммунного ответа у кроликов-продуцентов энтеровирусных диагностических сывороток //Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016. №4, -С. 89.
41. Козлова Т. К вопросу безопасности и контроля качества мясного сырья и мясных продуктов в России //Russian Journal of Agricultural and Socio-Economic Sciences, N 5 (5), 2012. – P. 33-38.
42. Колоколова Г.П., Вагина Н.Н. Естественные антитела к антигенам системы АВО(Н) в сыворотке крови кур (предварительное сообщение) //Судебно-медицинская экспертиза. 1996. №3,-С. 32-34.
43. Колоколова Г.П. Некоторые аспекты получения и применения антиглобулиновых сывороток широкого спектра действия для судебно-медицинских целей //Судебно-медицинская экспертиза. 2000. №4,-С. 22-28.
44. Коновалова E.H., Гладырь E.A., Зиновьева Н.А. Видовая идентификация мяса птицы в животноводческой продукции в применением метода полимеразной цепной реакции //Достижения науки и техники АПК. 2011. - №10. - C. 67-69.
45. Корнилова И.А. и др. Обеспечение стабильности иммуноглобулинов для внутривенного введения //Медицинские иммунобиол. препараты в XXI веке: разработка, производство и применение: матер. Всероссийской конф. –Уфа. - 2005. - Ч. 2. – С. 123
46. Краснопольский Ю.М. Биотехнология иммунобиологических препаратов //Харьков. - Фармитэк, 2008. –312 с.
47. Кулясова Н.А., Недолуга Н.О. [К анализу и интерпретации результатов при установлении видовой принадлежности биологических объектов (случай из практики)](https://www.forens-med.ru/book.php?id=5623) //Избранные вопросы судебно-медицинской экспертизы. – Хабаровск. - 2018. - №17. - С. 143-145.
48. Ломовицкая Л.И. Изготовление сывороток анти-Gc на основе производства кроличьих сывороток, преципитирующих белки крови человека //Судебно-медицинская экспертиза. – 1977. - №1. - С. 55-57.
49. Кулешов, К.В. Методические рекомендации по определению видовой принадлежности клеточных культур методом полимеразной цепной реакции с детекцией в реальном времени (ПЦР-РВ) //Москва: ВИЭВ. - 2008. - 19 с.
50. Малютина Н.Н., Тараненко Л.А. Патофизиологические и клинические аспекты воздействия метанола и формальдегида на организм человека //Современные проблемы науки и образования. - 2014. - №2. – С. 78-82.
51. Манько, В.М.,Девришов Д.А. Ветеринарная иммунология. Фундаментальные основы: Учебник //Москва: издательство «Агровет». - 2011. – 752 с.
52. Медуницын Н.В., Авдеева Ж.И., и др. Цитокины и вакцины //Медицинская иммунология. – 2001. - Т.3. - №3. - С. 439-447.
53. Медяник Е.Н. Вакцинопрофилактика – самый эффективный способ защиты от инфекции //Европейская неделя иммунизации: Предупредить. Защитить. Править. - №2 (29). – 2012. - С. 60-61.
54. Младзиевская Ю.А., Решетова Г.Н. Диагностические сыворотки фемидасера - иммунобиологические препараты для комплексного анализа микрообъектов судебно-биологической экспертизы //Медицина экстремальных ситуаций. – 2012. - №4. - С. 98-102.
55. Мишакова М.В., Потапов М.И. Выработка преципитинов у кроликов в зависимости от титра, достигнуто в предшествующих иммунизациях. //Сборник трудов по судебной медицине и судебной химии. Пермь. – 1961. - С. 134-137.
56. Мовсесянц, А.А. и др. К вопросу о применении гетерологичного антирабического иммуноглобулина для специфической профилактики бешенства у людей //Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2015. – № 5 (84). – С. 85–89.
57. Орлова С.Т., Сидорчук А.А., Горбатова Х.С., Сережина Л.А. Вопросы иммунизации домашних животных с учетом данных доказательной медицины //Российский ветеринарный журнал, МДЖ. - №1. - 2015. - С. 22-23.
58. Переварюха Т.Ю. Иммунохимический анализ сывороточных белков сезонных рас севрюги //Вестник АГТУ. - 2010. - №1. – С. 126-131.
59. Потапов М.И. Современное состояние отечественной судебно-медицинской серологии и перспективы ее развития //В кн.: Вопросы судебной медицины. - М. 1968. - С. 25-32.
60. Потапов М.И., Сигал Е.Р. Значение биологических знаний в экспертизе видовой принадлежности крови. //Судебно-медицинская экспертиза. – 1978. - №1. - С. 22-26.
61. Сенченко Б.С., Гугушвили Н.Н. Способ получения преципитирующих сывороток для определения видовой принадлежности мяса домашних и диких животных //Патент №А61К39/395. - 2000 г.
62. Серегин И.Г., Комарова И.Н., Валихов А.Ф. Применение ДНК-методов для идентификации пищевых продуктов //Мат. 2-й Международной научной конференции «Живые системы и биологическая безопасность населения». М.: МГУПБ. – 2003. - С. 57-58.
63. Серегин И.Г., Никитченко В.Е., Рысцова Е.О. Идентификация мяса и других продуктов убоя животных при вет. сан. экспертизе //Вестник РУДН. – 2015. - №4. - С. 94-100.
64. Сидиров В.Л. Физико-химические и иммунологические аспекты исследования пятен крови и спермы на объектах носителях. //Автореф. дисс… канд. биол. наук. СПб. – 2000. - 22 с.
65. Сидиров В.Л., Ягмуров О.Д. Опыт использования иммуноферментного анализа при установлении видовой принадлежности крови на вещественных доказательствах. //Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова. - 2013. - Том ХХ. - №3. – С. 61-62.
66. Сулейменова Г.М. Сравнительная оценка новых методов дифференцирования крови филогенетически близких видов животных. //Судебно-медицинская экспертиза. – 1977. - №2. - С. 38-40.
67. Тишинова Л.А. Определение видовой принадлежности объектов биологического происхождения. //Материалы второго всероссийского съезда судебных медиков. Москва-Иркутск. - 1987. - С. 264-266.
68. Толоконников В.К. Методы предварительного и экспертного исследования вещественных доказательств биологического происхождения //Вестник Самарской гуманитарной академии. Серия «Право». - 2014. - №1(15). - С.128-135.
69. Трынкина И.А. О получении преципитирующих сывороток высокого титра для установления видовой принадлежности крови. //Вопросы судебно-медицинской экспертизы. Сборник статей. Москва, 1954, -С. 425-427.
70. Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н., Ефременко В.И. и др. Способ получения диагностическойсыворотки //Патент РФ №2135210. Бюллетень №24 от 27.08.99.
71. Цыбульский А.В., Санина Н.М. и др. Разработка нового адъювантного липид-сапонинового комплекса и его применение при экспериментальной иммунизации бактериальным антигеном. //Биомедицинская химия. -2007. -№3. –С. 297-306.
72. Чард Т. Радиоиммунологические методы. – М.: Мир, 1981. – 246 с.
73. Чарный В.И. Установление видовой специфичности белков крови. //М.:Медицина, 1976. -120 с.
74. Ярилин А.А. Иммунология. – //М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 220 с.
75. Agmon-Levin. N., Blank, М., Shoenfeld Y. Adjuvants and autoimmunity. //Lupus. 2009, 18(13). 1217-1225.
76. Aguilar J. C. et al. Vaccine adjuvants revisited. //Vaccine. - 2007. - № 25. - Р. 3752-3762.
77. Allison A.C. et al. Immunological adjuvants: desirable properties and side-effects. //Mol. Immunol. - 1991. - № 28. -Р. 279-284.
78. Antu K Dey Novel. Аdjuvants and delivery systems for enhancing immune responses induced by immunogens. //Expert Review of Vaccines. - 2011. - Vol. 10, № 2. - Р. 227-251.
79. Arnold M.M., Srivastava S., Fredenburgh J., Stockard C.R., Myers R.B., Grizzle W.E. Effects of fixation and tissue processing on immunohistochemical demonstration of specific antigens//Biotech Histochem. –1996. – Vol. 71(5). – P. 224-230.
80. Berzofsky, J. A.; Berkower, I. J. Antigen-antibody interactions and monoclonal antibodies //In: Fundamental Immunology, 7th ed. - 2013. – P. 183–189.
81. Bos P.K., van Osch G.J., van der Kwast Т., Verwoerd-Verhoef H.L., Verhaar J.A. Fixation-dependent immunolocalization shift and immunoreactivity of intracellular growth factors in cartilage *//*Histochem J.2000. – Vol. 32(7). - P 391-396.
82. Buchwallow I, Bocker W. Antigen detection on tissues using primary antibody raised in the same species. //Immunohistochemistry. Basics and Methods. Berlin, Germany. Springer-Verlag. – 2010. - P. 77-81.
83. Byars N.E. et al. Immunologic adjuvants: general properties, advantages, and limitations //Laboratory Methods in Immunology. - 1990. - Р. 39-51.
84. Cattaneo C., Gelsthorpe K., Phillips P., Sokol R.J. Detection of human proteins in buried blood using ELISA and monoclonal antibodies: towards the reliable species identification of blood stains on buried material //Forensic Sci Int. - 1992. - Vol. 57. - №2. - P. 139-146.
85. Cattaneo C., Gelsthorpe K. Phillips P., Sokol R.J. Reliable identification of human albumin in ancient bone using ELISA and monoclonal antibodies H //J Phys Anthropol. -1992. - Vol. 87. - №3, - P. 365-372.
86. Cox J.C. and A.R. Coulter //Vaccine. - 1997. – Vol. 15(3). - P. 248-56.
87. Cribbs D.H., Ghochikyan A., Vasilevko V. et.al. Adjuvant-dependent modulation of Thl and Th2 responses to immunization with beta-amyloid //Int Immunol. – 2003. – Vol. 15(4). - P. 505-514.
88. Dapson RW. Macromolecular changes caused by formalin fixation and antigen retrieval //Biotech Histochem. – 2007. – Vol. 82. – P. 133-140.
89. Dmitriev D.A., Massino Y.S., Segal O.L. Kinetic analysis of interactions between bispecific monoclonal antibodies and immobilized antigens using a resonant mirror biosensor //J Immunol Methods. - 2003. - Vol. 280, - № 1-2. – P. 183-202.
90. Eastwood S.L., Burnet P.W., McDonald B., Clinton J., Harrison P.J. Synaptophysin gene expression in human brain: a quantitative in situ hybridization and immunocytochemical study //Neuroscience. –1994. – Vol. 59 (4). – P. 881-892.
91. Eickhoff T.C. Myers M. Workshop summary. Aluminum in vaccines //Vaccine. – 2002. – Vol. 20 (14). – P. 143-148.
92. Elias J.M. Antigen restoration: the “hot” revolution in immunohistochemistry //J. Histotechnol. – 2001. – Vol. 24(3). – P. 193-198.
93. Exley С., Siesjo P., Eriksson H. The immunobiology of aluminium adjuvants: how do they really work? //Immunol. – 2010. – Vol. 31(3). – P. 103-109.
94. Exley C., Swarbrick L., Gherardi R.K., Authier F.J. A role for the body burden of aluminium in vaccine-associated macrophagic myofasciitis and chronic fatigue syndrome //Med Hypotheses. – 2009. – Vol. 72(2). – P. 135-139.
95. George Mutwiri, Volker Gerdts, Sylvia van Drunen Littel-van den Hurk et al. Combination adjuvants: the nerf generation of adjuvants //Expert Review of Vaccines. - 2011. - Vol. 10. - № 1. - Р. 95 -107.
96. Gherardi R.K. Lessons from macrophagic myofasciitis: towards definition of a vaccine adjuvant-related syndrome //Rev Neurol (Paris). - 2003, - Vol. 159 (2). – P. 162-164.
97. Govind Ragupathi, Jeffrey R Gardner, Philip O Livingston. Natural and synthetic saponin adjuvant QS-21 for vaccines against cancer //Expert Review of Vaccines. - 2011. - Vol. 10. - № 4. - Р. 463 - 470.
98. Harris G., KuoLee R., Cben W. Role of Toll-like receptors in health and disease of gastrointestinal tract //World J. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12 (14). –P. 2149-2160.
99. Holmseth S, Zhou Y, Follin-Arbelet V, et al. Specificity controls for immunocytochemistry: the antigen preadsorption test can lead to inaccurate assessment of antibody specificity //J. Histochem Cytochem. – 2012. – Vol. 60(3). – P. 174-187.
100. 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.
101. Iwasaki A. and Medzhitov R //Science. - 2010. - Vol. 327(5963). - P. 291-295.
102. Jennings R. et al. Adjuvants and Delivery Systems for Viral Vaccines-Mechanisms and Potential //Dev. Biol. Stand. - 1998. - Vol. 92. - Р. 19-28.
103. Johnston E. et al. Comparison of presumptive blood test kits including Hexagon OBTI //J. Forensic. Sci. - 2008. – Vol. 53. - №3. – P. 687-689.
104. Kwak L. W. et al. Modern vaccine adjuvants //Canc. Chemother. Biother. - 1996. - P. 749­-763.
105. Lapierre Y. et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions //Transfusion. - 1990. – Vol. 30. – P. 109-113.
106. Li L, Cai B, Tao C, Wang L. Performance Evaluation of CLIA for Treponema Pallidum Specific Antibodies Detection in Comparison with ELISA //J. Clin Lab Anal. - 2015. Feb 25. Doi: 10/1002/jcla. – P. 218-239.
107. Malou Henriksen-Lacey, Karen Smith Korsholm, Peter Andersen Liposomal / vaccine delivery systems //Expert Opinion on Drug Delivery. - 2011. – Vol. 8:4. – P. 505-519.
108. Mc Cartney S, Vermi W, Gilfillan S, Cella M, Murphy TL, Schreiber RD, Murphy KM, Colonna M. Distinct and complementary functions of MDA5 and TLR3 in poly (I:C) - mediated activation of mouse NK cells //J Exp Med. – 2009. – Vol. 206. – P. 2967–2976.
109. McKee AS, MacLeod MK, Kappler JW, Marrack P. Immune mechanisms of protection: Can adjuvants rise to the challenge? //BMC Biol. – 2010. 8:37.
110. McKee AS, Munks MW, Marrack P. How do adjuvants work? Important considerations for new generation adjuvants //Immunity. – 2007. – Vol. 27. - P. 687–690.
111. Medunitsyn N. V. Basics of immunization and immunotherapy of infectious diseases. //M: GEOTAR-Media. - 2005. - 512 p.
112. Novaretti et al. Comparison of tube and gel techniques for antibody identification //Immunohematology. – 2000. - Vol. 16, - №4. - P. 138-141.
113. Nsubuga AM, Robbins MM, Roeder AD, et. al. Factors affecting the amount of genomic DNA extracted from ape feces and the identification of an improved sample storage method //Mol. Ecol. - 2004. – Vol. 13. – P. 2089-2094.
114. O’Hagan DT, De Gregorio E. The path to a successful vaccine adjuvant //The long and winding road’ Drug Discov Today. – 2009. – Vol. 14. – P. 541–551.
115. Ondrejkova A. Comparison of the detection and quantifcation of rabies antibodies in canine sera //Origi nal Paper Vet. Med. - 2002. – № 8. – P. 218–221.
116. Ozherelkov S.V., Kozhevnikova T.N., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Sanin A.V. Polyprenyl phosphate augments biologic activity of vaccines against tick borne encephalitis and rabies in experimental mice. //In: Abstracts of The international Human and Animal Viral Vaccination Conference. Edinburgh, UK.–14-16 July 2003; 9.
117. Porrett P.M., Yuan X., La Rosa D. F. Mechanisms underlying blockade of allograft acceptance by TLR ligands //J. Immunol. – 2008. – Vol. 181 (3). – P. 1692-1699.
118. Schweers B.A. et al. Developmental validation of a novel lateral flow strip test for rapid identification of human blood //Forensic Sci. Int. Genet. – 2008. – Vol. 2. - №3. – Р. 243-247.
119. Shi S.R., Liu C., Pootrakul L., Tang L., Young A., Chen R., Cote R.J., Taylor C.R. Evaluation of the value of frozen tissue section used as “gold standard” for immunohistochemistry //Am J. Clin Pathol. – 2008. Vol. 129(3). – P. 358-366.
120. Shoenfeld Y., Agmon-Levin, N. “ASIA”- Autoimmune inflammatory syndrome induced by adjuvants //J Autoimmun. – 2011. - Vol. 36(1). - Р. 4-8.
121. Sillevis Smitt P.A., van der Loos C., Vianney de Jong J.M., Troost D. Tissue fixation methods alter the immunohistochemical demonstrability of neurofilament on proteins, synaptophysin, and glial fibrillary acidic protein in human cerebellum //Acta Histochem. – 1993. - Vol. 95(1): - P. 13-21.
122. Singh M. Recent advances in vaccine adjuvants //Pharm. Res. – 2002. - Vol. 19. - P. 715-728.
123. Smith LM, Burgoyne LA. Collecting, archiving and processing DNA from wildlife samples using FTA(R) data basing paper //BMC Ecol. - 2004. –Vol. 4. - P. 4.
124. Sompuram SR, Vani K, Hafer LJ, et al. Antibodies immunoreactive with formalin-fixed tissue antigens recognize linear protein epitopes. //Am J Clin Pathol. – 2006. - Vol. 125(1). – P 82-90.
125. Sompuram SR, Vani K, Messana E, et al. A molecular mechanism of formalin fixation and antigen retrieval. //Am J Clin. Pathol. 2004; 121(2), 190-199.
126. Taylor A. et al. Extraction and ESI-CID-Ms/Ms analysis of myoglobins fran different meat species. //Food Sci. & Techn. Tod. - 2000. Vol. 69. № 1.
 - Р. 81-86
127. .The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Y. Lapierre et al. //Transfusion. 1990. – Vol. 30. – P. 109-113.
128. Thrasner L.D, Broughton A, Micevich P //Amer J. Ind. Med. – 1988, - Vol 14, N 4, - P 468-479.
129. Tsutsumi H., Htay H.H., Sato K., Katsumata Y. Antigenic properties of human and animal bloodstains studied by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using various antisera against specific plasma proteins //IIZ Rechtsmed. - 1987. - Vol. 99. - №3. - P. 191-196.
130. Van Kooyk Y., et al., Curr Opin Immunol. - 2004. – Vol. 16(4). - P. 488-493.
131. Vogel F. R. Adjuvants in Perspective. Modulation of the Immune Response to Vaccine Antigens //Dev. Biol. Stand. - 1998. Vol. 92. - Р. 241-248.
132. Wang X. CpG oligodeoxynucleotide acts as a potent adjuvant for inactivated rabies virus vaccine //Vaccine. – 2008. – Vol. 26. – P. 1893-1901.
133. Webster J.D., Miller M.A., Dusold D., Ramos-Vara J. Effects of prolonged formalin fixation on diagnostic immunohistochemistry in domestic animals //J Histochem Cytochem. *–* 2009. - Vol. 57(8). – P. 753-761.
134. Welch R.J. An evaluation of two commercially available ELISAs and one in-house reference laboratory ELISA for the determination of human anti-rabies virus antibodies //J. Med. Microbiol. - 2009. -Vol. 58, - №6. -P. 806–810.
135. Xiang Z.Q. et al. Protection of non-human primates against rabies with an adenovirus recombinant vaccine.//Virology. –2014. – Vol. 450-451. – P. 243–249.
136. Yamamoto Y., Tsutsumi A., Ishizu H. Species identification ofblood and bloodstains by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using anti-human immunoglobulin kappa light chain monoclonal antibody //Forensic Sci Int. - 1989. Vol. 40. – P. 85-95.
137. Yan Cao, Xiaoyue Zhu, Md Nazir Hossen, Prateek Kakar, Yiwen Zhao, Xinyuan Chen. Augmentation of vaccine-induced humoral and cellular immunity by a physical radiofrequency adjuvant. //Nature Communications 9, Article number: 3695 (2018).
138. Yodova J., Ameno K. Groups from Forensic Biological Specimens //Acta Criminol, Medicine. Legal, Japan. – 2004. - Vol. 70. - №5. - P. 153-158.
1. Барсегянц Л.О. Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств. Москва, Медицина, - 2005. - 447 с. [↑](#footnote-ref-1)
2. Иванов П.Л., Клевно В.А. Судебно-биологическая экспертиза: реалии и перспективы. //Судебно-медицинская экспертиза, 2008. - №1. - С. 19-24. [↑](#footnote-ref-2)
3. 3Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 7 декабрдаги 5590-сонли «Соғлиқни сақлаш тизимини тубдан такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар тўғрисида»ги Фармони [↑](#footnote-ref-3)