Судебно-медицинская экспертиза
2025, Т. 68, №5, с. 39–42
https://doi.org/10.17116/sudmed20256805139

Forensic Medical Expertise
2025, Vol. 68, No.5, pp. 39–42
https://doi.org/10.17116/sudmed20256805139

Установление динамики активности и стабильности проб ПСА$_{общ}$ в образцах спермы на марле, разведенных дистиллированной водой

© А.А. ГУСАРОВ[1], В.Л. СИДОРОВ[2, 3], О.Д. ЯГМУРОВ[2], К.Т. МОМЫНАЛИЕВ[3]

[1]ФГБУ «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Минздрава России, Москва, Россия;
[2]СПб ГБУЗ «Бюро судебно-медицинской экспертизы», Санкт-Петербург, Россия;
[3]ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Росздравнадзора, Москва, Россия

Резюме

В публикации представлены результаты экспериментального исследования стабильности простатоспецифического антигена общего (ПСА$_{общ}$) в образцах из высушенной на марле спермы, разведенных дистиллированной водой. Целью работы являлось установление динамики активности и стабильности проб ПСА$_{общ}$ в изготовленных экстрактах. Материалом исследования явились образцы семенной жидкости, высушенной на марле. Исследование проводили методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа. Измерения в образцах производили 5 раз в течение рабочего дня. Полученные результаты позволили доказать значимое снижение активности ПСА$_{общ}$ в экстрактах из пятен спермы на марле в течение 6 ч при комнатной температуре (+18—20 °С). Результаты исследования, подтвержденные данными статистического анализа, могут быть учтены в случае применения метода количественного иммуноферментного анализа для установления наличия спермы на вещественных доказательствах при производстве судебно-биологических экспертиз.

Ключевые слова: *ПСА$_{общ}$, иммуноферментный анализ, стабильность, активность, концентрация, дистиллированная вода.*

Информация об авторах:

Гусаров А.А. — https://orcid.org/0000-0003-4270-1609**;** e-mail: gusarov_68@mail.ru
Сидоров В.Л. — https://orcid.org/0000-0002-2214-895X; e-mail: v.l.sidorov60@gmail.com
Ягмуров О.Д. — https://orcid.org/0000-0002-0200-8474; e-mail: oraz.yagmurov@gmail.com
Момыналиев К.Т. — https://orcid.org/0000-0003-4656-1025; e-mail: dhoroshun@gmail.com
Автор, ответственный за переписку: Гусаров А.А. — e-mail: gusarov_68@mail.ru

Как цитировать:

Гусаров А.А., Сидоров В.Л., Ягмуров О.Д., Момыналиев К.Т. Установление динамики активности и стабильности проб ПСА$_{общ}$ в образцах спермы на марле, разведенных дистиллированной водой. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2025;68(5):39–42. https://doi.org/10.17116/sudmed20256805139

Establishing the dynamics of activity and stability of total PSA samples in semen samples on gauze, diluted with distilled water

© A.A. GUSAROV[1], V.L. SIDOROV[2, 3], O.D. YAGMUROV[2], K.T. MOMYNALIEV[3]

[1]Russian Center of Forensic Medical Expertise, Moscow, Russia;
[2]Bureau of Forensic Medicine, St. Petersburg, Russia;
[3]All-Russian Research and Testing Institute of Medical Equipment of Roszdravnadzor, Moscow, Russia

Abstract

The article presents the results of an experimental study of the stability of total PSA in samples from sperm dried on gauze, diluted with distilled water. The goal of the work was to establish the dynamics of activity and stability of total PSA samples in the prepared extracts. The research material included samples of seminal fluid dried on gauze. The study was carried out using a quantitative enzyme-linked immunosorbent assay. Measurements in the samples were carried out 5 times during the working day. The results obtained allowed us to prove a significant decrease in total PSA activity in extracts from sperm stains on gauze for 6 hours at room temperature (+18—20 °C). The results of the study, confirmed by statistical analysis data, can be taken into account in the case of using the quantitative enzyme immunoassay method to determine the presence of sperm on material evidence during forensic biological examinations.

Keywords: *total PSA, enzyme immunoassay, stability, activity, concentration, distilled water.*

Information about the authors:

Gusarov A.A. — https://orcid.org/0000-0003-4270-1609**;** e-mail: gusarov_68@mail.ru
Sidorov V.L. — https://orcid.org/0000-0002-2214-895X; e-mail: v.l.sidorov60@gmail.com
Yagmurov O.D. — https://orcid.org/0000-0001-6588-1898; e-mail: oraz.yagmurov@gmail.com
Momynaliev K.T. — https://orcid.org/0000-0003-4656-1025; e-mail: dhoroshun@gmail.com
Corresponding author: Gusarov A.A. — mail: gusarov_68@mail.ru

To cite this article:

Gusarov AA, Sidorov VL, Yagmurov OD, Momynaliev KT. Establishing the dynamics of activity and stability of total PSA samples in semen samples on gauze, diluted with distilled water. *Forensic Medical Expertise*. 2025;68(5):39–42. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/sudmed20256805139

Введение

С целью установления наличия спермы на вещественных доказательствах в практику работы судебно-экспертных организаций Российской Федерации постепенно внедряются современные высокотехнологичные методы, в частности метод количественного твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) и колориметрический метод, которые с конца прошлого столетия широко используются за рубежом [1—3]. В последнее десятилетие в нашей стране разрабатываются методы внутрилабораторного контроля качества количественных методов исследования биологических объектов (крови, слюны, спермы) и совершенствуются способы судебно-цитологических исследований, которые необходимо применять при проведении судебно-биологических экспертиз вещественных доказательств [4—7].

Принцип ИФА заключается в образовании специфического иммунного комплекса с использованием иммобилизованных простатспецифических антигенов (ПСА) — антител, а также моноклональных ПСА — антител, меченых пероксидазой. Этот комплекс выявляют посредством окраски с помощью рабочего раствора тетраметилбензидина, после чего в лунки полистирольного планшета вносят стоп-реагент. Регистрацию результатов реакции осуществляют фотометрически на регистрирующем приборе при длине волны 450 нм с введением результатов в компьютерную базу данных [8—16]. При исследовании пятен, подозрительных на сперму, методом ИФА в качестве экстрагента можно использовать дистиллированную или деионизированную воду.

Изучение стабильности концентрации и активности $ПСА_{общ}$ при хранении проб в разных условиях является актуальной задачей, поскольку позволяет избежать возможных ошибок при выявлении компонентов спермы на вещественных доказательствах в процессе производства судебно-биологических экспертиз. Вопрос валидации на преаналитической стадии при исследовании концентрации $ПСА_{общ}$ в буферных или водных экстрактах в настоящее время практически не изучен.

Цель исследования — изучение продолжительности хранения проб (вытяжек), изготовленных из исследуемых образцов спермы на основе дистиллированной воды и исследование изменения и активности $ПСА_{общ}$.

Материал и методы

Образцы семенной жидкости разводили дистиллированной водой с pH 7,4 в соотношении 1:1 (высокая концентрация) и 1:25 (низкая концентрация). Разведенную вышеуказанным способом семенную жидкость в количестве 1 мкл наносили на кусочки стерильной марли размером 0,5×0,5 см и высушивали при комнатной температуре (+18—20 °C). Затем помещали в пробирки типа Эппендорф и заливали дистиллированной водой с pH 7,4 в количестве 100 мкл. Экстрагировали в течение 18 ч в условиях бытового холодильника (+4—5 °C). Затем пробы вынимали из холодильника и хранили при комнатной температуре (+18—20 °C) в течение 6 ч. После чего производили измерение концентрации $ПСА_{общ}$ в вытяжках посредством ИФА.

Ход исследования

Исследование стабильности $ПСА_{общ}$ проводили пятикратно в течение рабочего дня в промежуток времени с 9 до 15 ч по 5 репликатов в каждой серии с экстракцией дистиллированной водой. Статистическую обработку и валидацию данных осуществляли в соответствии с методиками оценки процедур контроля качества и верификации с применением вычисления: среднего значения — $\overline{X}$ (average value), стандартного отклонения — SD (standart deviation), коэффициента вариации — CV% (coefficient of variation), ошибки среднего — SEM (standart error of the mean), метода регрессионного анализа, дисперсионного анализа и метода ANOVA, принятых при процедурах контроля качества в клинико-диагностических лабораториях. Статистическую значимость различий CV% оценивали по *t*-критерию Стьюдента и *F*-критерию Фишера. Активность изменения $ПСА_{общ}$ в водных экстрактах при разной продолжительности хранения рассматривали как процент снижения концентрации от результата в 1-й серии опыта до последнего измерения в 6-й серии. За 100% принимали результат первого измерения 1-й серии каждого опыта.

Стабильность проб оценивается с помощью измерения параметров тестируемых компонентов в определенные промежутки времени и оценки стандартного отклонения (SD) для установления временного интервала, в течение которого измеряемый показатель будет показывать приемлемые результаты. Изучение стабильности позволяет получить промежуток времени, необходимый для проведения качественного проведения измерений исследуемых показателей, а также для оценки процедуры верификации. При исследовании стабильности проводили измерение концентрации $ПСА_{общ}$ в экстрактах в количестве 5 серий в течение рабочего дня, по 5 репликатов в каждой серии.

Данные активности и точностные характеристики повторных измерений в динамике экстрактов $ПСА_{общ}$ с высо-

Показатели активности и стабильности $ПСА_{общ}$ в вытяжках из пятен спермы на марле, разведенной дистиллированной водой
Indicators of activity and stability of PSA_{total} in extracts from sperm stains on gauze diluted with distilled water

Параметр		Семенная жидкость в разведении 1:25 (ПСА, нг/мл)					Семенная жидкость в разведении 1:1 (ПСА, нг/мл)				
		9:00	10:30	12:00	13:30	15:00	9:00	10:30	12:00	13:30	15:00
№ п/п	1	4,94	3,83	3,35	2,64	2,45	21,03	20,14	18,09	16,36	14,92
	2	4,72	3,60	2,68	2,68	2,39	21,54	20,00	17,13	15,80	14,50
	3	3,94	3,50	2,72	2,67	2,17	21,26	19,79	17,4	15,3	14,64
	4	4,85	3,72	2,81	2,52	2,24	20,94	20,02	18,11	16,05	14,73
	5	4,17	3,58	3,12	2,59	2,43	20,77	19,90	17,24	15,47	14,81
CV% внутрисерийный, %		9,79	3,60	9,79	2,46	5,30	1,41	0,66	2,64	2,66	1,09
Активность внутрисерийная, %		100	80,6	64,9	57,9	51,6	100	94,6	83,4	74,9	69,7

ким и низким содержанием $ПСА_{общ}$, полученные при использовании в качестве экстрагента дистиллированной воды, представлены в **таблице**.

Результаты проведенного исследования показали, что оба уровня концентрации снижались достаточно значительно в течение рабочего дня. Статистически значимое различие снижений уровней концентрации при исследовании низких уровней $ПСА_{общ}$ наблюдалось уже к 10:30 (p<0,004), усиливалось к 12:00 (p<0,001) и 15:00 (p<0,001). Для высоких уровней $ПСА_{общ}$ различие наблюдалось также уже к 10:30 (p<0,002), усиливалось к 12:00 (p<0,001) и 15:00 (p<0,001).

Суммарный внутрисерийный CV% составил 7,8% для низких концентраций ПСА, что было достоверно выше по сравнению с 1,8% для высоких (p<0,05).

Активность $ПСА_{общ}$ через 1,5 ч уменьшилась до 94,6% в высоких и до 80,6% в низких концентрациях. К концу рабочего дня (через 6 ч) активность ПСА составила 69,7 и 51,6% соответственно.

Таким образом, активность $ПСА_{общ}$ в водных экстрактах семенной жидкости на основе дистиллированной воды в течение рабочего дня может упасть на 30—48% (в зависимости от концентрации) при хранении проб при комнатной температуре (+18—20 °С).

Заключение

В процессе выполнения исследования было установлено, что в образцах спермы на марле, разведенных дистиллированной водой, происходит постепенное снижение уровня содержания (активности) $ПСА_{общ}$ в течение 6 ч при температуре +18—20 °С. При этом пробы с высокой концентрацией $ПСА_{общ}$ пригодны для его определения методом ИФА на протяжении 4 ч, а пробы с низкой концентрацией $ПСА_{общ}$ — на протяжении 2 ч 30 мин.

Полученные результаты исследования могут быть учтены при проведении судебно-биологических экспертиз по установлению наличия спермы на вещественных доказательствах методом ИФА и значительно повысить их эффективность.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Сидоров В.Л., Гусаров А.А., Ягмуров О.Д. Современные экспертные алгоритмы исследования следов крови, спермы и слюны на вещественных доказательствах. *Вестник Всероссийского общества специалистов по медико-социальной экспертизе, реабилитации и реабилитационной индустрии*. 2017;4:70-81.
Sidorov VL, Gusarov AA, Yagmurov OD. Modern expert algorithms for studying traces of blood, sperm and saliva on physical evidence. *Vestnik Vserossijskogo obshhestva specialistov po mediko-social'noj jekspertize, reabilitacii i reabilitacionnoj industrii*. 2017;4:70-81. (In Russ.).

2. Сидоров В.Л., Лобан И.Е., Гусаров А.А., Портнова Н.А., Хоровская Л.А. Сравнительная характеристика методов исследования вещественных доказательств, применяемых для установления наличия крови и выделений в Российской Федерации и в зарубежных странах. *Вестник судебной медицины*. 2020;9(1):10-16.
Sidorov VL, Loban IE, Gusarov AA, Portnova NA, Khorovskaya LA. Comparative characteristics of methods for studying physical evidence used to establish the presence of blood and secretions in the Russian Federation and in foreign countries. *Vestnik sudebnoy meditsiny*. 2020;9(1):10-16. (In Russ.).

3. Сидоров В.Л., Лобан И.Е., Гусаров А.А., Портнова Н.А., Хоровская Л.А. Применение количественных методов исследования следов крови и выделений на вещественных доказательствах при производстве судебно-биологических экспертиз. *Вестник судебной медицины*. 2020;9(2):28-34.
Sidorov VL, Loban IE, Gusarov AA, Portnova NA, Khorovskaya LA. Application of quantitative methods for studying traces of blood and secretions on material evidence during forensic biological examinations. *Vestnik sudebnoy meditsiny*. 2020;9(2):28-34. (In Russ.).

4. Гусаров А.А., Сидоров В.Л., Ягмуров О.Д., Нагорнов М.Н. Методика проведения внутрилабораторного контроля качества при установлении видовой принадлежности крови по $IgG_{общ}$ с помощью количественного иммуноферментного анализа. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2025;68(1):38-42.
Gusarov AA, Sidorov VL, Yagmurov OD, Nagornov MN. Methodology for performing intralaboratory quality control in establishing species of the blood by IgG_{total} with the use of quantitative enzyme-linked immunosorbent assay. *Forensic Medical Expertise*. 2025;68(1):38-42. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/sudmed20256801138

5. Гусаров А.А., Сидоров В.Л., Сурикова Н.Е., Ягмуров О.Д. Определение органной и видовой принадлежности микрочастиц печени методами судебно-медицинской цитологии и количественного твердофазного иммуноферментного анализа. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2025;68(4):29-33.
Gusarov AA, Sidorov VL, Surikova NE, Yagmurov OD. Organ and species identification of liver microparticles using forensic cytology and quantitative enzyme-linked immunosorbent assay methods. *Forensic Medical Expertise*. 2025;68(4):29-33. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/sudmed20256804129

6. Гусаров А.А., Сидоров В.Л., Ягмуров О.Д., Сурикова Н.Е. Установление видовой принадлежности фрагментов и частиц поперечно-полосатой мышечной ткани по $IgG_{общ}$ с помощью количественного твердофазного иммуноферментного анализа. *Судебно-медицинская экспертиза*. 2024;67(6):21-24.
Gusarov AA, Sidorov VL, Yagmurov OD, Surikova NE. Establishing the species belonging of fragments and particles of striated muscle tissue by total IgG using quantitative solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. *Forensic Medical Expertise*.2024;67(6):21-24. (In Russ.).
https://doi.org/10.17116/sudmed20246706121

7. Гусаров А.А., Сурикова Н.Е. *Методика производства судебно-цитологических исследований по делам о половых преступлениях. Учебное пособие*. М.; 2023.
Gusarov AA, Surikova NE. *Metodika proizvodstva sudebno-citologicheskikh issledovaniy po delam o polovykh prestuplenijakh. Uchebnoe posobie*. Moskva; 2023. (In Russ.).

8. Сидоров В.Л., Гусаров А.А., Исакова И.В., Ягмуров О.Д. *Установление видовой принадлежности биологических объектов по IgG человека с помощью количественного твердофазного иммуноферментного анализа: усовершенствованная медицинская технология*. М.: РЦСМЭ; 2011.
Sidorov VL, Gusarov AA, Isakova IV, Yagmurov OD. *Establishing the species affiliation of biological objects based on human IgG using quantitative solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay: improved medical technology*. M.: RCFME; 2011. (In Russ.).

9. Фокина Е.В., Гусаров А.А. Судебно-биологическая экспертиза при дорожно-транспортных происшествиях. *Медицинская экспертиза и право*. 2011;4:20-22.
Fokina EV, Gusarov AA. Forensic biological examination in road traffic accidents. *Meditsinskaja jekspertiza i pravo*. 2011;4:20-22. (In Russ.).

10. Сидоров В.Л., Гусаров А.А., Исакова И.В. *Установление наличия спермы на вещественных доказательствах по кислой фосфатазе колориметрическим методом: методические рекомендации*. М.: РЦСМЭ; 2012.
Sidorov VL, Gusarov AA, Isakova IV. *Determination of the presence of sperm in material evidence using the acid phosphatase colorimetric method: guidelines*. M.: RCFME; 2012. (In Russ.).

11. Гусаров А.А., Фокина Е.В. Редкий случай автомобильной травмы с проникновением пня в салон автомобиля.*Медицинская экспертиза и право*. 2011;3:52-53.
Gusarov AA, Fokina EV. A rare case of a car injury with a tree stump penetrating into the car interior. *Medicinskaja jekspertiza i pravo*. 2011;3:52-53. (In Russ.)

12. Фетисов В.А., Гусаров А.А., Хабова З.С., Смиренин С.А. Современные проблемы исследования повреждений в публикациях журнала «Судебно-медицинская экспертиза» (2000—2014). *Судебно-медицинская экспертиза*. 2015;58(4):56-52.
Fetisov VA, Gusarov AA, Khabova ZS, Smirenin SA. Modern problems of damage research in publications of the journal Forensic Medical Examination (2000—2014). *Sudebno-meditsinskaya ekspertiza*. 2015;58(4):56–62. (In Russ.).

13. Сидоров В.Л., Ягмуров О.Д., Гусаров А.А. Способы применения количественного иммуноферментного анализа для установления видовой принадлежности биологических объектов и доказательного обнаружения спермы на вещественных доказательствах. *Вестник судебной медицины*. 2021;10(2):4-8.
Sidorov VL, Yagmurov OD, Gusarov AA. Methods of using quantitative enzyme-linked immunosorbent assay to determine the species of biological objects and to detect sperm on physical evidence. *Vestnik sudebnoy meditsiny*. 2021;10(2):4-8. (In Russ.).

14. Сидоров В.Л., Ягмуров О.Д., Гусаров А.А., Портнова Н.А. Применение колориметрического метода для выявления спермы и слюны на вещественных доказательствах. *Вестник судебной медицины*. 2021;10(1):22-26.
Sidorov VL, Yagmurov OD, Gusarov AA, Portnova NA. The application of the colorimetric method for detecting sperm and saliva based on material evidence. *Vestnik sudebnoy meditsiny*. 2021;10(1):22-26. (In Russ.).

15. Сидоров В.Л., Лобан И.Е., Гусаров А.А., Исакова И.В., Хоровская Л.А., Портнова Н.А. *Алгоритм исследования следов крови и выделений на вещественных доказательствах методами количественного иммуноферментного анализа и колориметрии: методические рекомендации*. М.: РЦСМЭ; 2021.
Sidorov VL, Loban IE, Gusarov AA, Isakova IV, Khorovskaya LA, Portnova NA. *Algorithm for studying traces of blood and secretions on material evidence using quantitative enzyme-linked immunosorbent assay and colorimetry: methodological recommendations*. M.: RCFME; 2021. (In Russ.).

16. Сидоров В.Л., Гусаров А.А., Исакова И.В., Черепанова Т.В., Спиридонова О.В. *Установление наличия спермы на вещественных доказательствах по простатическому специфическому антигену человека с помощью количественного иммуноферментного анализа: усовершенствованная медицинская технология*. М.: РЦСМЭ; 2011.
Sidorov VL, Gusarov AA, Isakova IV, Cherepanova TV, Spiridonova OV. *Detection of the presence of sperm in human prostate-specific antigen evidence using quantitative enzyme-linked immunosorbent assay: an improved medical technology*. M.: RCFME; 2011. (In Russ.).

Поступила 17.09.2024
Receiver 17.09.2024
Принята к печати 29.09.2024
Accepted 29.09.2024