

© Д. О. Уманський

УДК 340.6:616-076:577.21

Д. О. Уманський

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СПОСОБІВ ВИЛУЧЕННЯ МІКРОСЛІДІВ КРОВІ З РІЗНОМАНІТНИХ ПРЕДМЕТІВ-НОСІЇВ ПРИ ПРОВЕДЕННІ КОМПЛЕКСНОГО СУДОВО-МЕДИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Одеський національний медичний університет, кафедра судової медицини
та медичного законодавства (м. Одеса)

Одеське обласне бюро судово-медичної експертизи (м. Одеса)

Дана робота є фрагментом НДР «Судово-медична молекулярно-генетична ідентифікація особи при дослідженні одиничних ядровмістимих клітин в мікрослідіа біологічного походження», № держ. реєстрації 0111U003340.

Вступ. Дуже часто під час скоєння злочину, спрямованого проти життя та здоров'я людини, на речових доказах залишаються контактні сліди злочинців, які наносили тілесні ушкодження. Серед них найбільш розповсюдженими є мікрослідіа мікрослідіа крові. Мікрослідіа можуть варіювати у розмірах, але в більшості випадків вони незначні за площею та слабо помітні неозброєним оком, і тому для їх виявлення застосовують спеціальні пристрої (стереомікроскопи) [3]. Такі об'єкти надзвичайно важливі та цінні для вирішення питань слідства, що постають перед судово-медичними експертами, оскільки дуже часто вони залишаються непоміченими злочинцями. Використання комплексних методик дослідження мікрослідіа біологічного походження із застосуванням цитологічних та молекулярно-генетичних методів надає можливість ідентифікувати особу, причетну до скоєння злочину, на достатньо високому вірогіднісному рівні [4].

За встановленими правилами проведення комплексних судово-медичних експертиз об'єктів біологічного походження необхідно спочатку визначити наявність біологічного матеріалу на речовому доказі, його виду приналежність, провести судово-цитологічне дослідження із виявленням ядровмістимих клітин та їх регіонального походження, і тільки потім матеріал може бути переданий для дослідження методом ПЛР-аналізу геномної ДНК. На всі вищезазначені процедури витрачається значна кількість біологічного матеріалу, що знижує ефективність проведення судово-медичного дослідження із застосуванням молекулярно-генетичного методу. У зв'язку з тим, що кількість біологічного матеріалу зазвичай мала, а об'єм необхідних досліджень значний, виникає актуальне питання раціонального використання наданих судово-слідчими органами об'єктів [5]. Першим кроком до раціоналізації дослідження мікрослідіа є використання способу, який дозволяє вилучити максимальну кількість наявного біологічного матеріалу на речовому доказі з мінімальними втратами.

Метою нашого дослідження було визначення найбільш оптимального способу вилучення біологічного матеріалу (мікрослідіа крові) з різноманітних предметів-носіїв, який би дозволив мінімізувати втрати ядровмістимих клітин.

Нами були вивчені різноманітні способи вилучення (змиви, зіскоби, вилучення з фрагментом предмету-носія) мікрослідіа крові із різноманітних предметів-носіїв.

Для досягнення мети вирішували наступні **завдання**:

1. Визначали співвідношення між об'ємом крові та розміром мікрослідіа, що утворився на різноманітних предметах-носіях.

2. Проводили порівняльний аналіз способів вилучення мікрослідіа крові з різноманітних предметів-носіїв (змив, зіскоб, вилучення з фрагментом предмета-носія);

Об'єкт і методи дослідження.

Методи дослідження: цитологічні, статистичного аналізу.

Для експериментальних досліджень використовували кров без антикоагулянтів, яка була відібрана з пальця у живих осіб на базі Одеського обласного бюро СМЕ. Через 2 хвилини після відбору крові за допомогою автоматичного дозатору «Eppendorf Research» виливали кров об'ємами 1,0 мкл, 5,0 мкл, 10,0 мкл та 15,0 мкл через проміжок у 4 см на різноманітні поверхні.

Для експериментальних досліджень в якості предметів-носіїв були відібрані:

- дерев'яні бруски;
- фрагменти металевого листа;
- предметні скельця.

Вибір вищенаведених предметів-носіїв був зумовлений тим, що найбільш розповсюдженими речовими доказами, які надаються на дослідження у процесі розслідування кримінальних злочинів, спрямованих на позбавлення життя та заподіяння шкоди здоров'ю особи, та на яких в більшості випадків присутні мікрослідіа крові, є ножі з різноманітними рукоятками, різноманітні інструменти (сокири, молотки, викрутки) з дерев'яними ручками, фрагменти скла.

Для визначення розміру (площі) плями, що утворюється на різноманітних поверхнях предметів-носіїв після нанесення відомого об'єму крові,

застосовували повірену металеву лінійку з ціною поділки 0,1 мм. Дослід повторювали 10 разів.

Перед кожним нанесенням крові поверхню металевого листа обробляли деконтамінуючим розчином «DNA Zap TM» (США), який дозволяє запобігти контамінації поверхонь чужорідною ДНК.

Для кожного нового дослідження використовували новий фрагмент дерев'яного бруска та нове предметне скло, які також обробляли деконтамінуючим розчином «DNA Zap TM».

Після нанесення крові експериментальні поверхні та матеріали залишали на 12 годин при кімнатній температурі (+22°C) для висихання мікрослідів. Вплив факторів зовнішнього середовища був мінімізований: експериментальні зразки розміщали таким чином, щоб пряме сонячне світло та волога на них не потрапляли. При проведенні експериментальної роботи були забезпечені стандартні умови для всіх предметів-носіїв.

Через 12 годин вимірювали розміри мікрослідів крові, що утворилися.

Для визначення середнього арифметичного з одержаних значень використовували формулу 1:

$$\bar{X} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} \text{ або } \bar{X} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (1)$$

де: Σ – знак суми, x_i – варіанти або значення ознаки, n – об'єм вибірки.

Середньоквадратичне (або стандартне) відхилення (σ) розраховували за формулою 2:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}} \quad (2)$$

де: Σ – знак суми, \bar{X} – середнє арифметичне, x_i – варіанти або значення ознаки, n – об'єм вибірки.

З дерев'яних поверхонь проводили зіскоби одноразовим лезом, змиви стерильним марлевым тампоном, який складався з декількох ниток марлі, змочених у фізіологічному розчині, ти вилучення плям крові з фрагментом предмета-носія; з металу та скла проводили змиви та зіскоби плям крові.

Характеристика об'єктів дослідження із врахуванням методів вилучення мікрослідів крові з різноманітних предметів-носіїв наведені у **таблиці 1**.

На судово-цитологічному етапі вирізки, змиви та зіскоби переносили в пробірки типу «епендорф» об'ємом 1,5 мл, заливали фізіологічним розчином, та проводили інкубацію в термошейкері «Biosan TS-100» протягом 24 годин в режимі інтенсивного ротаційного перемішування (1000-1200 об/хв) при температурі 20°C [1]. Термошейкер – це пристрій, який дозволяє здійснювати коливальні рухи в термостабільному режимі. Залишки предмета-носія видаляли. Пробірки з вмістом центрифугували протягом 5 хв при 1500 об/хв на центрифугу Biosan «Фуга/вортекс мікро-спін FV-2400». Надосадову рідину видаляли. З осаду готували цитологічні препарати у вигляді крапель на предметному склі, підсушували та фіксували розчином ацетону та 70% етанолу. Після фіксації одержаний матеріал фарбували азур-еозиновою сумішшю [2]. Маркування препаратів проводили спеціальним маркером по склу, а потім покривали полістиролом або липкою стрічкою із вказівкою номера об'єкта.

При визначенні кількості **ядровмістимих клітин шляхом** цитологічного обліку користувалися наступними критерії придатності клітин:

1. ядра клітин повинні мати чіткі контури без зміни форми;
2. мати ніжну хроматинову сітку;
3. повинні бути відсутні нашарування мікробів, сторонніх домішок або інших клітин;
4. у клітин повинні бути збережені морфологічні структури – клітинна мембрана, форми самої клітини та ядра.

Результати досліджень та їх обговорення. Середню площу мікрослідів, які утворилися через 12 годин після нанесення крові об'ємами 1,0 мкл, 5,0 мкл, 10,0 мкл та 15,0 мкл на різноманітних поверхнях предметів-носіїв наведено у **таблиці 2**.

З наведених даних видно, що площа плям крові залежить від матеріалу предмету-носія та об'єму вилитої крові. На дерев'яній поверхні мікросліди крові були найбільшими у зв'язку з тим, що дерево має волокнисту структуру, яка сприяє розтіканню рідини. Метал та скло мають найбільш щільну поверхню, яка не сприяє розтіканню та просочуванню вилитої

Таблиця 1

Характеристика об'єктів дослідження із врахуванням методів вилучення мікрослідів крові з різноманітних предметів-носіїв

Спосіб вилучення мікрослідів крові	Матеріал предмета-носія, на якому утворилися мікросліди											
	Деревина				Метал				Скло			
	Об'єм вилитої крові, мкл				Об'єм вилитої крові, мкл				Об'єм вилитої крові, мкл			
	1	5	10	15	1	5	10	15	1	5	10	15
Змив	№1	№2	№3	№4	№13	№14	№15	№16	№21	№22	№23	№24
Зіскоб	№5	№6	№7	№8	№17	№18	№19	№20	№25	№26	№27	№28
Вилучення з фрагментом предмета-носія	№9	№10	№11	№12	-	-	-	-	-	-	-	-

СУДОВА МЕДИЦИНА

Таблиця 2

Середня площа слідів, що утворюються через 12 годин після нанесення крові об'ємами 1,0 мкл, 5,0 мкл, 10,0 мкл та 15,0 мкл на різноманітні поверхні предметів-носіїв, мм²

Матеріал предмету-носія	Площа сліду, який утворився в результаті нанесення 1,0 мкл крові, мм ²	Площа сліду, який утворився в результаті нанесення 5,0 мкл крові, мм ²	Площа сліду, який утворився в результаті нанесення 10,0 мкл крові, мм ²	Площа сліду, який утворився в результаті нанесення 15,0 мкл крові, мм ²
Деревина	1,072±0,076	9,97±0,17	31,5±1,7	76,09±0,92
Метал	0,81±0,031	8,12±0,35	26,9±1,3	68,08±0,22
Скло	0,8±0,029	8,15±0,3	26,5±1,02	67,8±0,88

Таблиця 3

Кількість ядровмістимих клітин крові у цитологічних препаратах, приготовлених з мікрослідів крові на дерев'яній поверхні, металевій поверхні та склі, вилучених різноманітними способами, шт

Спосіб вилучення мікросліду крові	Кількість ядровмістимих клітин крові, шт											
	Деревина				Метал				Скло			
	Об'єм вилитої крові, мкл				Об'єм вилитої крові, мкл				Об'єм вилитої крові, мкл			
	1	5	10	15	1	5	10	15	1	5	10	15
Змив	40	230	410	600	30	170	360	500	35	180	380	540
Зіскоб	50	260	530	750	45	220	520	730	45	240	530	750
Вилучення з фрагментом предмета-носія	60	300	620	830	-	-	-	-	-	-	-	-

рідини, і тому розміри плям крові на таких поверхнях будуть меншими.

Кількість ядровмістимих клітин крові у цитологічних препаратах, приготовлених з мікрослідів крові на дереві, металі та склі, вилучених різноманітними способами, наведена у **таблиці 3**.

З наведених у **таблиці 3** даних випливає, що найбільш оптимальним способом вилучення мікросліду крові з дерев'яної поверхні є вилучення мікросліду з фрагментом предмету-носія. У порівнянні зі змивом вихід ядровмістимих клітин збільшується на 50%, а у порівнянні зі зіскобом – на 20%.

Найбільш оптимальним способом вилучення мікросліду крові з металеві поверхні та скла є проведення зіскобу з поверхні предмета-носія. У порівнянні зі змивом вихід ядровмістимих клітин збільшується на 50%.

Висновки. Отримані результати експериментальних досліджень дозволили зробити висновок, що розміри мікросліду крові залежать від об'єму рідини, яка потрапила на предмет-носіїв, та матеріалу предмета-носія. Волокнисті поверхні сприяють

розтіканню крові по поверхні, на гладких поверхнях мікрослід розташовується більш концентровано.

Для вилучення мікрослідів крові необхідно використовувати методики, які дозволяють максимального збільшити вихід ядровмістимих клітин.

Для застосування в експертній практиці найбільш доцільно використовувати наступні методи вилучення **мікрослідів крові**:

- зі всмоктуючих поверхонь проводити вилучення мікросліду з фрагментом предмету-носія;

- з невсмоктуючих поверхонь проводити зіскоби.

Перспективи подальших досліджень. Визначення найоптимальніших методів вилучення мікрослідів крові з різноманітних предметів-носіїв, які мінімізують втрати ядровмістимих клітин, дозволить вивчити можливість їхнього застосування при дослідженні інших мікрослідів біологічного походження (слини, сперми, вагінального епітелію, пото-жирових виділень), а також використовувати результати експериментальних досліджень для проведення порівняльного аналізу з новими методами вилучення, які плануються впроваджувати в судово-медичну практику.

Список літератури

1. Пат. 56521 Україна, МПК (2011. 01) А61В 5/00 А61В 10/00 Спосіб ідентифікації особи / Кривда Г. Ф., Кривда Р. Г., Уманський Д. О., Константиновська І. О., Яворський Б. І.; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. – № U 201013439; заявл. 12.11.2010; опубл. 10.01.2011, Бюл. № 1. – 3 с.
2. Старовойтова Р. О. Судово-медична цитологія: навч. -метод. посібник / Р. О. Старовойтова, В. Д. Мішалов, Г. Ф. Кривда. – Одеса: Астропринт, 2007. – 200 с.

3. Судебно-медицинские цитологические исследования следов не вещественных доказательствах / Е. И. Королева, Л. А. Ревнитская, А. Л. Федоровцев, Н. С. Эделева; под ред. Н. С. Эделева. – Нижний Новгород: Поволжье, 2009. – 152 с.
4. Уманський Д. О. Судово-медична ідентифікація особи за допомогою дослідження геномної ДНК біологічного матеріалу у цитологічних препаратах / Д. О. Уманський, Р. Г. Кривда, Г. Ф. Кривда // Вісник проблем біології і медицини. – 2012. – Вип. 3, том 1 (94). – С. 224-231
5. Холодилова І. В. До питання раціонального використання об'єктів при проведенні судово-цитологічних досліджень в експертизах при проведенні статевих злочинів / І. В. Холодилова // Науково-практична нарада завідувачів імунологічними та цитологічними відділеннями обласних бюро судово-медичної експертизи України, 18-19 вер. 2008 р., Дніпропетровськ: тези доп. – Дніпропетровськ, 2008. – С. 57-60.

УДК 340.6:616-076:577.21

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СПОСОБІВ ВИЛУЧЕННЯ МІКРОСЛІДІВ КРОВІ З РІЗНОМАНІТНИХ ПРЕДМЕТІВ-НОСІЇВ ПРИ ПРОВЕДЕННІ КОМПЛЕКСНОГО СУДОВО-МЕДИЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

Уманський Д. О.

Резюме. У роботі проводився порівняльний аналіз способів вилучення мікрослідів крові з різноманітних предметів-носіїв, експериментально вивчався взаємозв'язок між об'ємом крові та розміром мікрослідку, що утворився на різноманітних предметах-носіях. Отримані результати дозволили зробити висновок, що розміри мікрослідку крові залежать від об'єму рідини, яка потрапила на предмет-носію, та матеріалу предмета-носія. Волокнисті поверхні сприяють розтіканню крові по поверхні, на гладких поверхнях мікрослід розташовується більш концентровано. Найбільш оптимальним способом вилучення мікрослідку крові з дерев'яної поверхні є вилучення мікрослідку з фрагментом предмету-носія, з металевої поверхні та скла – проведення зіскобу з поверхні предмета-носія.

Ключові слова: мікросліди крові, цитологічний препарат, предмет-носію, порівняльний аналіз способів вилучення мікрослідів.

УДК 340.6:616-076:577.21

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПОСОБОВ ИЗЪЯТИЯ МИКРОСЛЕДОВ КРОВИ С РАЗЛИЧНЫХ ПРЕДМЕТОВ-НОСИТЕЛЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КОМПЛЕКСНОГО СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Уманский Д. А.

Резюме. В работе проводился сравнительный анализ способов изъятия микроследов крови с различных предметов-носителей, экспериментально изучалась взаимосвязь между объемом крови и размером образовавшегося на различных предметах-носителях микроследа. Полученные результаты позволили сделать вывод, что размеры микроследа крови зависят от объема жидкости, попавшей на предмет-носитель, и материала предмета-носителя. Волокнистые поверхности способствуют растеканию крови по поверхности, на гладких поверхностях микрослед располагается более концентрировано. Наиболее оптимальный способ изъятия микроследа крови с деревянной поверхности является изъятие микроследа с фрагментом предмета-носителя, с металлической поверхности и стекла – проведение соскоба с поверхности предмета-носителя.

Ключевые слова: микроследы крови, цитологический препарат, предмет-носитель, сравнительный анализ способов изъятия микроследов.

UDC 340.6:616-076:577.21

Comparative Analysis of Blood Microtraces Extraction Methods from Various Objects-Carriers for Complex Forensic-Cytological Research

Umanskiy D. A.

Summary. Comparative analysis of blood microtraces extraction methods from various objects-carriers was performed, connection between blood volume and shapes of the microtrace on various objects-carriers was studied. Seizes of blood microtrace depend from the volume of fluid, which has flowed on the object, and material of object-carrier. Fibrous surfaces contribute to the blood flow over the surface, on the smooth surfaces microtrace is concentrated. The most optimal method of blood microtrace extraction from the wooden surface is extraction of the microtrace with object-carrier's fragment, from the metal and glass – scrape from the object-carrier's surface.

Key words: blood mscrotraces, cytological specimen, object-carrier, comparative analysis of methods of microtraces extraction. сравнительный анализ способов изъятия микроследов.

Стаття надійшла 2012 р.

Рецензент – проф. Старченко І. І.