

Міністерство охорони здоров'я України

**Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної
роботи**

ДОСЛІДЖЕННЯ РІДКОЇ КРОВІ ТА ЇЇ СЛІДІВ НА РЕЧОВИХ ДОКАЗАХ.

(Методичні рекомендації)

Київ 2010

Установи-розробники:

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика

Державна установа Головне бюро судово-медичної експертизи МОЗ України

Укладачі:

Бурчинський Василь Георгійович к.мед.н., доцент (456-60-98)

Дем'янчук Алла Петрівна (456-60-98)

Хохолєва Тамара Володимирівна к.мед.н., доцент (440-97-98)

Рецензенти:

Сухий Валентин Дмитрович начальник Центру судових експертиз МО України, Головний судово-медичний експерт МО України, к.мед.н.

Старовойтова Ріоріта Олексіївна завідувач відділення судово-медичної цитології ДУ Головне бюро судово-медичної експертизи МОЗ України, к.біолог.н. (456-60-98)

Голова проблемної комісії АМН та МОЗ України за фахом «Судова медицина», д.мед.н., професор В.Д.Мішалов.

Міністерство охорони здоров'я України
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи

«УЗГОДЖЕНО»

Директор Департаменту

розвитку медичної допомоги

МЗУ України

М. К. Хобзей

2010 р.



ДОСЛІДЖЕННЯ РІДКОЇ КРОВІ ТА ЇЇ СЛІДІВ
НА РЕЧОВИХ ДОКАЗАХ
(Методичні рекомендації)

Київ 2010

З М І С Т

Вступ.....	2
РОЗДІЛ І. Встановлення наявності крові в слідах на речових доказах доказовими методами.....	3
1. Інформація щодо використання тестів для встановлення наявності крові.....	3
2. Встановлення наявності крові.....	3
2.1. Метод тонкошарової хроматографії.....	3
2.2. Метод мікроспектрального дослідження гемохромогену.....	5
2.3. Метод люмінесцентної мікроскопії з наступним мікроспектральним дослідженням.....	6
РОЗДІЛ ІІ. Встановлення видової належності крові, виявленої в слідах на речових доказах та деяких інших біологічних об'єктів.....	7
1. Реакція преципітації в рідкому середовищі.....	8
2. Реакція преципітації в агаровому гелі.....	9
3. Реакція електропреципітації (метод зустрічного імуноелектрофорезу).....	9
РОЗДІЛ ІІІ. Визначення групи рідкої крові та в слідах на речових доказах за системою АВ0.....	12
1. Відбір крові.....	12
2. Визначення групи рідкої крові.....	13
3. Визначення групи крові в зразках на марлі та в слідах на речових доказах.....	15
4. Диференціація антигенів крові та виділень людини у змішаних слідах (за М.С.Свірським).....	25
5. Основи формування підсумків «Висновку експерта» та їх зразки.....	27
Висновки.....	30
Література.....	31

ВСТУП

Однією з головних задач судово-медичної експертизи крові у відділеннях судово-медичної імунології та судово-медичної цитології бюро судово-медичної експертизи України є отримання максимального обсягу інформації про сліди на речових доказах. Основне питання, яке дасть можливість вирішувати наступні, що ставить слідство перед експертами, це довести, що в цих слідах є кров, незалежно від їх давності, спроб знищення або спростувати це. Далі встановити її видову належність. І якщо кров належить людині, встановити можливість походження її від конкретної особи, що, перш за все, вирішується визначенням групової належності за системою АВО.

До теперішнього часу для вирішення цих питань експерти користувалися методичними рекомендаціями, листами, які були видані ще в 60-80рр. минулого століття Міністерством охорони здоров'я бувшого Радянського Союзу. В Україні такі рекомендації, які б регламентували порядок виконання відповідних видів досліджень у відділеннях судово-медичної імунології та судово-медичної цитології, відсутні.

Судово-медична імунологія для вирішення одного і того ж питання має у своєму арсеналі багато методів досліджень, але їх чутливість неоднакова. Запропоновані методичні рекомендації систематизують найбільш поширені методи дослідження рідкої крові та її слідів на речових доказах, що використовуються в практичній роботі експертів відділень судово-медичної імунології, судово-медичної цитології, пройшли багаторічну апробацію і доступні для виконання, забезпечені достатнім технічним оснащенням та реактивами. Їх використання дасть максимальний позитивний результат при мінімальній потребі у розхідних матеріалах. На підставі багатолітньої апробації традиційних методів, що використовуються при встановленні групової належності крові, нами запропоновані деякі зміни в параметрах певних реакцій з їх обґрунтуванням.

Методичні рекомендації з цих питань до видання в Україні запропоновані вперше і розраховані для лікарів-судово-медичних експертів-імунологів, лікарів-судово-медичних експертів-цитологів.

РОЗДІЛ І. Встановлення наявності крові в слідах на речових доказах доказовими методами

1. Інформація щодо використання тестів для встановлення наявності крові.

За останній час з'явилися дані відносно використання певних тестів для встановлення наявності крові:

- Смужки гемофану дозволяють встановити слідову присутність крові, але також часто дають і неспецифічний результат. Особливо це стосується плям заражених деякими бактеріями, зокрема дріжджами та пліснявою. Інколи був отриманий позитивний результат з розведеним виноградним вином, соком, кремом для чистки взуття, навіть губною помадою. Отже, апробація цього тесту не дає змоги рекомендувати використовувати його як доказовий метод в судово-медичній практиці.

- Обти-тест менш чутливий ніж гемофан, але більш специфічний. Тест дозволяє виявити гемоглобін людини. Однак при значній концентрації білку в екстракті може давати позитивний результат з кров'ю деяких тварин і риб. Отже, для встановлення наявності крові тест може бути використаний, а відносно діагнозу, що це виявлений гемоглобін людини, треба бути обережним і переконатися в цьому за допомогою традиційних методів встановлення видової належності крові.

2. Встановлення наявності крові .

У судово-медичній практиці встановлення наявності крові в слідах на речових доказах проводиться виявленням гемоглобіну та його дериватів.

На сучасному етапі найбільш широко використовуються наступні методи:

2.1. Метод тонкошарової хроматографії.

Метод базується на виявленні гемоглобіну, який утворює на хроматограмі специфічну зону. Поява такої зони зумовлена пероксидазними властивостями гемоглобіну.

Метод хроматографії має ряд переваг, оскільки сприяє можливості максимально зберегти інформацію про виявлену кров для подальшого дослідження (встановлення виду білка крові, виявлення групових антигенів, ДНК-аналізу тощо) у випадках дослідження мікрослідів крові і раціональному використанню цього матеріалу.

Техніка реакції.

Реакцію проводять в хроматографічних камерах, які можуть бути різних розмірів, навіть можливе використання в якості такої камери чашки Петрі. Хроматографія може бути як горизонтальною, так і вертикальною. Використовують пластинки з тонким шаром сорбенту, типу «Sulyfol».

1. Підготовка матеріалу до дослідження.

Шматочки із слідів підозрілих на кров або весь об'єкт (для мікрооб'єктів) та предметів-носіїв екстрагують фізіологічним розчином хлориду натрію при температурі 4-8°C в умовах побутового холодильника.

Якщо плями на речових доказах мають значну давність утворення (3-6 міс. і більше) або підлягали фіксуєчій дії сонячних променів, хімічних речовин, спиртів, тощо, екстрагування може проходити при кімнатній температурі, але не вище 22°C.

Час екстрагування матеріалу залежить від розчинності речовини плям і може тривати від 1 години до 2-3 діб (найбільш оптимальний час екстрагування – 18-20 годин).

Після екстрагування дуже мутні витяжки піддають центрифугуванню, екстракт розводять фізіологічним розчином хлориду натрію до світло-жовтого кольору.

2. Нанесення матеріалу на пластинки.

На хроматографічну пластинку м'яким олівцем наноситься лінія старту на відстані 5-10мм від нижнього краю пластинки (якщо проводиться горизонтальна хроматографія – нижня частина пластинки до лінії старту згинається під кутом 90° – ця частина є «фітилем» для підйому розчинника).

На лінію старту на відстані 5-10мм від лівого краю пластинки та одна від одної наносяться витяжки із плям та контрольних ділянок предметів-носіїв капілярами, злегка доторкуючись до пластинки. Після одноразового нанесення проводиться ще декілька нанесень, щоб загальна кількість витраченого об'єкту складала, приблизно, 2мкл. Так само наноситься «свідок» - 0,01% розчин зразка крові.

Пластинку із нанесеними витяжками підсушують при кімнатній температурі і ставлять в сушильну камеру на 15 хвилин при 100°C, що приводить до інактивації рослинної пероксидази, якщо вона міститься в об'єктах.

3. Процес розділення - власне хроматографія.

Підготовлену таким чином пластинку розміщують в хроматографічній камері із заздалегідь налитим розчинником на висоту від 1мм до 5мм (залежить від розмірів камери), нижній край пластинки має зануритися у розчинник, але останній не повинен доходити до лінії старту.

Розчинник складається із н-бутанолу, оцтової кислоти, дистильованої води у співвідношенні: 4:1:2. Розділення проводиться поки розчинник не досягне лінії фронту, час розділення залежить від розмірів пластинки, зазвичай, складає 10-25хвилин.

Пластинку виймають із камери і висушують при кімнатній температурі до повного випаровування запаху оцтової кислоти. Прискорити цей процес можна прогріванням пластинки в сушильній шафі при температурі 60°C протягом декількох хвилин.

4. Детектування – виявлення специфічної зони.

Детектування зони гемоглобіну відбувається за допомогою бензидинової проби, використовуючи 1% розчин бензидину в етанолі з оцтовою кислотою (10:1) та 3% розчин перекису водню.

Оскільки зона гемоглобіну розташовується в верхній третині пластинки, ця частина пластинки і підлягає обробці детектуючими розчинами. Із пульверизатора спочатку наносять розчин бензидину, через 1-2 хвилини – розчин перекису водню. Якщо нанесені витяжки із об'єктів містять кров, недалеко від лінії фронту з'являється зона синього кольору на одному рівні зі «свідком», при відсутності такої зони в межах розподілу витяжок із контрольних ділянок предмета-носія. Значення Rf (співвідношення відстані, яку пройшла пляма, до відстані, що пройшов розчинник) варіює в межах 0,82-0,9 і залежить від ряду факторів: концентрації витяжки, складу розчинників, шару сорбенту, тощо.

Домішки виділень людини (сперми, слини, піхвових виділень тощо) в витяжках із плям не заважають виявленню крові в слідах.

2.2. Метод мікроспектрального дослідження гемохромогену.

Кров в плямах під дією кисню повітря, висихання та дії інших факторів видозмінюється і гемоглобін поступово переходить в метгемоглобін, гематин. Але оскільки ці найближчі деривати гемоглобіну мають низьку спектральну чутливість, їх спектр поглинання виражений слабо і його можна не побачити. Тому гемоглобін крові штучно переводять в гемохромоген, який має високу спектральну чутливість і характерний спектр поглинання, що і використовується при судово-медичному дослідженні для встановлення наявності крові в слідах.

1. Підготовка матеріалу та реактивів.

Шматочок із тканини плям, зішкріб тощо розмішують на предметному скельці, обробляють 1-2 краплями 33% їдкого лугу (KOH або NaOH), потім додають 1-2 краплі відновника (сірчаного амонію або гідросульфїту натрію) або замість цих двох компонентів можна використати розчин Капеліович Р.Н. (1г очищеної сірки, 10мл 10% розчину їдкого натру та 10мл 96% спирту, суміш кип'ятять протягом 2-3 хвилин до появи темно-жовтого забарвлення), накривають покривним скельцем і вивчають під мікроскопом при збільшенні 8х, 10х.

2. Мікроспектроскопія.

Під впливом лугу барвник крові переходить в гематин, а під впливом відновника – в гемохромоген, при цьому в препараті з'являються частки червоного, рожевого або жовтого кольору в залежності від складу та кількості крові в плямі. Потім на окуляр тубуса мікроскопа встановлюють мікроспектральну насадку (або користуються мікроспектроскопом) і виявлену ділянку розташовують під щілиною окуляру мікроспектральної насадки або мікроспектроскопу. На окуляр опускають спектроскоп (верхня частина приладу), в якому вже спостерігають спектр гемохромогену, що має дві смуги поглинання в жовто-зеленій частині видимого спектру: ліва – інтенсивна з чітко

визначеними межами (довжина хвиль – 565-556 нм); права – слабо виражена з нечіткими межами (535-520нм).

2.3. Метод люмінесцентної мікроскопії з наступним мікроспектральним дослідженням.

Метод використовується при отриманні негативного результату встановлення наявності крові будь-яким із методів, оскільки досліджується один із дериватів гемоглобіну – гематопорфірин, який є продуктом дуже глибокого розпаду гемоглобіну. Це остання ступінь розпаду, котру ще можна визначити спектроскопічно і який утворюється при обробці крові концентрованою сірчаною кислотою та має властивість флуоресцювати оранжево-червоним кольором в ультрафіолетових променях.

Найбільш ефективним цей метод є в наступних випадках:

- при дії на сліди різних факторів, таких як замивання слідів водою і миючими засобами, дії високої температури, тощо;
- при дослідженні слідів крові з гнильними змінами, а також нерозчинних або слабо розчинних слідів.

Техніка реакції.

1. Апаратура.

Для дослідження можуть бути використані:

- люмінесцентний мікроскоп серії «Люмам»;
- люмінесцентні освітлювачі ОІ-17, ОІ-18 тощо;
- в якості фільтрів, що збуджують люмінесценцію, використовують УФС-1, УФС-3, УФС-6, СС-15; в якості фільтрів, що закривають - ЖС-3, ЖС-18.

2. Підготовка матеріалу, дослідження в ультрафіолетових променях.

Об'єкт (розшаровані ниточки тканини, зішкріб, тощо) розміщують на предметному скельці, обробляють 1-2 краплями сірчаної кислоти, накривають покривним скельцем і мікроскопують в ультрафіолетових променях. Препарати потрібно досліджувати протягом перших 5-ти хвилин, оскільки при більш тривалій експозиції гематопорфірин може розчинитися в сірчаній кислоті і флуоресценції не буде спостерігатися.

3. Мікроспектральне дослідження.

Якщо отримано оранжево-червону флуоресценцію, препарати піддають мікроспектральному дослідженню, для чого використовується мікроспектральна насадка, в щілину якої поміщають частку, що флуоресцює, виключають ультрафіолетове випромінювання і спостерігають спектр поглинання кислого гематопорфірину, який знаходиться в жовто-зеленій ділянці довжини хвиль 590-650нм.

В якості контролю використовують:

- лабораторний зразок крові, висушений на марлі;
- предмет-носій.

РОЗДІЛ II. Встановлення видової належності крові, виявленої в слідах на речових доказах та деяких інших біологічних об'єктів.

Після встановлення наявності крові в слідах на речових доказах виникає питання її видової належності.

На сучасному етапі існує декілька методик встановлення видової належності крові. Але всі вони базуються на взаємодії антигену і антитіла, тобто, на кордоні двох рідин утворюється осад у вигляді кільця (при реакції преципітації в рідкому середовищі), смужки (при електропреципітації або преципітації в гелі). Антигени, що викликають утворення осаджуючих антитіл, називаються преципітиногенами; антитіла, котрі містяться в імунній сироватці, називають преципітинами, звідси і назва сироватки - преципітуюча, а осаду – преципітат.

Для реакції преципітації використовуються преципітуючі сироватки, які повинні відповідати наступним вимогам:

- бути прозорими, світло-жовтого кольору, не опалесціувати, оскільки в замутному середовищі можна не помітити кільця осаду;

- бути стерильними;

- мати високу специфічність, тобто осаджувати із розчинів тільки той білок, для відкриття якого вона виготовлена. В теперішній час сироватки виготовляються зі специфічністю в межах однієї години, тобто протягом цього часу вони не дають осадів з чужерідними білками в розведенні останніх 1:1000, хоча потрібно враховувати груповидову специфічність (здатність реагувати на білки філогенетично близьких видів тварин);

- мати певну активність (титр). Титр сироватки визначається тим найбільшим розведенням, при якому антиген ще відкривається сироваткою. Для судово-медичних цілей використовуються сироватки з титром 1:10000, оскільки сироватки з більш низьким титром можуть не відкрити білок в дуже слабих розведеннях, а сироватки більш високого титру (1:50000) відкривають надзвичайно малу кількість білку, нерідко не кров'яного походження (наприклад, поту).

Преципітуючі сироватки повинні зберігатися у вертикальному положенні, при температурі 4-8°C в умовах побутового холодильника. Термін придатності сироваток визначається результатом обов'язкової перевірки їх титру перед кожним дослідженням. Специфічність перевіряється при поступленні сироваток, але сироватки не повинні використовуватися пізніше зазначеного терміну придатності.

Витяжки із слідів крові також повинні відповідати певним вимогам:

- бути прозорими (для преципітації в рідкому середовищі);

- мати певну концентрацію білку, приблизно 1:1000.

Високий вміст білку може привести до утворення неспецифічного осаду при взаємодії різнойменних антигену і антитіла або його не утворення при однойменних антигені і антитілі внаслідок «феномену зони».

В якості контролю в реакцію преципітації вводять:

- витяжки із матеріалу предмета-носія;
- фізіологічний розчин хлориду натрію, котрим проводилося екстрагування;
- антиген в розведенні 1:1000 (для преципітації в рідкому середовищі) та додатково 1:10000 (для електропреципітації).

1. Реакція преципітації в рідкому середовищі.

1.1. Підготовка матеріалу та його екстрагування.

Шматочки із слідів з кров'ю та предмета-носія розміщують в аглютинаційні пробірки і заливають фізіологічним розчином хлориду натрію з невеликим надлишком. Кількість фізіологічного розчину варіює в залежності від матеріалу предмету-носія, ступеня насиченості плями кров'ю та її величини.

Правила екстрагування такі ж самі, як і при підготовці матеріалу до встановлення наявності крові методом тонкошарової хроматографії (див. РОЗДІЛ I. «Встановлення наявності крові в слідах на речових доказах доказовими методами».)

Потрібно тільки враховувати, що при короткочасному екстрагуванні можливе швидке розчинення гемоглобіну, але, як правило, недостатньо розчиняються білки крові.

Якщо встановлення наявності крові проводили вищезазначеним методом, то, зазвичай, використовуються залишки цих витяжок.

1.2. Обробка витяжок.

Якщо витяжки мутні, їх потрібно просвітлити, що досягається наступними заходами:

- центрифугуванням витяжок при порівняно невеликому замутненні;
- фільтруванням за допомогою фільтрувального паперу.

Після просвітлення перевіряють вміст білку у витяжках пробою з азотною кислотою (наявність невеликого білуватого осаду на кордоні дотику витяжки та азотної кислоти свідчить про приблизну концентрацію білку 1:1000. Ця концентрація є оптимальною для проведення реакції преципітації, тому витяжки, які мають більшу концентрацію слід розводити фізіологічним розчином хлориду натрію до вказаної концентрації під контролем проби з азотною кислотою. Витяжки із контрольних ділянок предметів-носіїв вводяться в реакцію нерозведеними.

1.3. Постановка реакції преципітації.

Реакцію проводять в пробірках Уленгута (пробірки з конусоподібним дном), використовуючи три види сироваток, зазвичай, на білок людини, рогатої худоби та птиці. У випадку від'ємного результату з зазначеними сироватками у реакцію вводять інші сироватки. Складаються ряди преципітуючих сироваток, кількість яких відповідає числу введених в реакцію сироваток. В кожному ряді будуть пробірки, що містять:

- витяжки із плям крові;
- витяжки із предметів-носіїв,
- фізіологічний розчин хлориду натрію, яким проводилося екстрагування матеріалу;

- антиген в розведенні 1:1000 однойменний сироватці, що використовується для цього ряду.

В пробірки вносимо витяжки із плям та предметів-носіїв відповідно написам, фізіологічний розчин, антиген, потім акуратно нашаровуємо преципітуючу сироватку, відповідну кожному ряду.

1.4.Оцінка отриманих результатів.

При взаємодії антигену з відповідним антитілом утворюються осад у вигляді кілець, зазвичай, в межах 1-10хвилин. Але з різних причин (невисокий титр сироватки, недостатня концентрація білку у витяжках, зміни білка) цей час може подовжуватися. Поява осаду в межах 1години є позитивним результатом, при відсутності його з двома іншими сироватками, а також у всіх контролях, за виключенням антигену.

Якщо у витяжці (-ах) із плям при від'ємній реакції з контролями випадає осад під впливом двох сироваток, то необхідно ввести в реакцію всі інші сироватки, які є в наявності у відділенні. При негативному результаті з іншими сироватками при отриманні такого ж результату повторно можна думати про змішану кров за присутності білку двох видів.

2. Реакція преципітації в агаровому гелі.

Реакцію в цьому варіанті можна проводити не тільки з витяжками, але і безпосередньо з шматочками матеріалу із плям крові і предметів-носіїв. Частіше ця реакція використовується при встановленні виду білка у замутих витяжках, що не піддаються просвітленню, при малій кількості витяжки, а також при диференціюванні білків філогенетично близьких тварин.

Техніка реакції описана в інформаційному листі «Судово-цитологічні дослідження мікронакладень на знаряддях травми та піднігтьовому вмісті», Головне бюро судово-медичної експертизи МОЗ України, Київ, 2004.

3.Реакцією електропреципітації (метод зустрічного імуноелектрофорезу).

Метод електропреципітації поєднує в собі переваги реакції преципітації в гелі з чутливістю, що переважає над реакцією преципітації в рідкому середовищі. Крім того метод забезпечує проведення реакції в більш стислі строки і використовується для встановлення: видової належності в слідах крові дуже малої величини; видової належності м'язів та кісток; при використанні мутних витяжок; при поганій розчинності білків крові; при неспецифічних явищах в реакції кільцепреципітації.

Принцип реакції полягає в тому, що при електрофорезі від катоду до аноду рухається більшість білкових фракцій, в тому числі і альбуміни, а гамма-глобулін залишається в зоні старту. Таким чином, якщо в лунку, що розташована біля катоду, помістити витяжку із плями крові, а в лунку, що розташована біля аноду - преципітуючу сироватку, то при електрофорезі альбуміни будуть рухатися в сторону аноду, а їм назустріч – гамма-глобулін преципітуючої сироватки. Відомо, що антитіла містяться в основному в гамма-глобуліновій фракції сироватки, преципітат же утворюється головним чином за рахунок альбумінів, тобто при електрофорезі, компоненти, що утворюють

преципітат, будуть рухатися назустріч один одному і при зустрічі гомологічні антиген і антитіло утворять преципітат у вигляді вертикальної смужки.

Техніка реакції.

Готують 1% агаровий гель на буфері наступного складу:

ТРИС(гідроксид)	- 10,80г
Борна кислота	- 5,50г
Трилон Б (N,N,N,N-г)	- 0,38г
Дистильована вода	- до 1л.

Буфер цього ж складу використовується і як електродний.. Електродний буфер також можна використовувати декілька разів.

Можна рекомендувати також приготувати гелевий і електродний буфер за наступним прописом:

Кислота борна	- 6,7г
Натрію тетраборат (бура)	-13,4г
Вода дистильована	- до 1л

pH= 8,65

Якщо для реакції використовується агар «Корсаківський», «Одеський», «Японський», його потрібно промивати, щоб досягти повної прозорості.

Отже, використовується наступна методика приготування гелю: спочатку готують 2% агаровий гель, для чого бг сухого агару висипають в колбу ємкістю 1л і додають 300мл дистильованої води, розігривають на водяній бані і виливають у ванночку шаром товщиною 2-1,5см. Після вистигання агар розрізають на кубики 1x1см і промивають у дистильованій воді протягом 2-х діб, при цьому замінюючи воду 3-4 рази на добу. Після промивання гель знову переносять у колбу, розігривають на водяній бані і додають рівний об'єм буферного розчину, який складається із 2-х частин буфера для виготовлення агару і 1-ї частини дистильованої води (200мл буферу і 100мл дистильованої води) – це буде 1% гель. В якості консерванту можна використовувати мертиолат (1:10000) або кристалик тимолу. Готовий гель розливають по колбочкам і зберігають у холодильнику.

Якщо використовується агар фірм «Difco», «Ferak» - його промивати не потрібно. В такому випадку гель одразу готується потрібної концентрації, для чого бг сухого агару всипають в колбу ємкістю 1л, додають 400мл дистильованої води та 200мл буферу для виготовлення агару. Розігривають на водяній бані і розливають по колбочкам.

Підготовка матеріалу відповідно до п.1 розділу «Реакція преципітації в рідкому середовищі», за виключенням прояснення і фільтрування витяжок, оскільки на результат реакції мутність витяжок впливу не має. Перевірка титру і специфічності сироваток також проводиться в реакції електропреципітації.

Для проведення реакції розігрітий гель наливають на скляні пластинки, які розташовують на горизонтальній поверхні з рівнем, роблять це швидко, щоб

шар гелю був однаковий по всій поверхні пластинки. Протягом 10-15хвилин гель охолоджується і застигає. Після чого пробійником пробивають по два ряди отворів, діаметром 0,2-0,3см, видаляють агар із цих отворів препарувальною голкою або піпеткою.

В отвори одного ряду вносять підготовлені витяжки із слідів крові (кісток, м'язів) і предметів-носіїв, в отвори другого ряду – преципітуючу сироватку.

Пластинку розміщують в електрофоретичній камері, ванночки якої заповнені електродним буфером, в зовнішні резервуари ванночки розміщують електроди. Катод (-) включають зі сторони ряду отворів з витяжками із об'єктів, а анод (+) – зі сторони преципітуючих сироваток. Час електрофорезу 40-60хвилин при напрузі 220вольт та силі струму 24мА при кімнатній температурі. Час електрофорезу може бути подовжений при ненасиченій витяжці, при дослідженні безпосередньо ниточок матеріалу тощо, але, бажано, не більше 1 години (при більш тривалому електрофорезі починає розплавлятися гель). По закінченню електрофорезу апарат виключають із мережі електропостачання, пластинку виймають, обсушують на фільтрувальному папері і проводять облік реакції в прохідному світлі на чорному фоні. При позитивному результаті реакції між витяжкою із плями крові і відповідною преципітуючою сироваткою утворюється смуга преципітату. Пластинку зберігають у вологій камері протягом доби і двічі за цей час продивляються, після чого гель знімають і утилізують.

Примітка: для встановлення видової належності у важкорозчинних слідах матеріал рекомендовано піддати обробці розчином трипсину, як найбільш доступним, безпечним і дешевим ферментом. Для цього використовується 0,1% розчин трипсину (для чого треба взяти 50мг сухого трипсину і додати до 50мл фізіологічний розчин) з рН=7,2, цим розчином можна обробити шматочки-вирізки із слідів та контролі предметів-носіїв і витримати їх до повного висихання, або 2-3 краплі розчину додати безпосередньо в пробірки, де проходить екстрагування.

При дослідженні дуже старих плям, речових доказів, що піддавалися дії високої температури (при пожежах), або в замитих та пропрасованих слідах трипсинізацію слід проводити в термостаті при температурі +37°С протягом 30 хвилин. Але після такої обробки матеріалу і проведеної реакції електропреципітації - облік її проводиться протягом доби (не більше), інакше сам трипсин може давати позитивну реакція з преципітуючими сироватками.

РОЗДІЛ Ш. Визначення групи рідкої крові та в слідах на речових доказах за системою АВО.

1.Відбір крові.

Для вирішення питань, зазначених в постанові слідчого або ухвалі суду, необхідно мати зразки крові осіб, що проходять у справі.

Зразок крові із трупа забирається експертом, який проводить розтин, і направляється у відділення для дослідження.

Відбір крові у живих осіб може проводитися у відділенні, а також поза межами відділення (у поліклініці, клініці, медсанчастині, госпіталі тощо) особою, що володіє даною маніпуляцією. В залежності від обсягу дослідження кров береться із пальця або із ліктьової вени (у дітей також можливо із вени кисті рук або вен стопи) в кількості 1-5мл.

Відібрання зразків крові оформляється «Актом відбору крові», в якому вказується дата відбору, прізвище, ім'я, по батькові особи, у якої беруть кров, дата і місце народження, серія та номер паспорта із назвою установи, що його видала, та дати видачі, прізвище працівника, який провів відбір крові, кількість відібраної крові і спосіб відібрання.

Якщо особа доставлена для відбору крові у відділення у супроводі слідчого або іншої особи, якій доручено це здійснити, в «Акт» вносяться аналогічні дані про цю особу, робиться запис, що відбір зразку крові проводився у його присутності.

У випадку, коли відбір крові проводиться поза відділенням, в «Акті» вказуються назва установи, де це відбувається, прізвище, ім'я, по батькові особи, яка проводила відбір крові.

«Акт» підписують: особа, у якої відібраний зразок; особа, що проводила відбір крові; особа, що була в якості свідка або супроводжувала особу, у якої проводився відбір крові.

При необхідності вказується, на яке середовище були взяті зразки, застосовані консерванти (стабілізуючі розчини). Після оформлення «Акт» зберігається разом з другим примірником «Висновку експерта».

Складання «Акту» є обов'язковим при відборі крові поза межами установи. При відборі крові у відділенні складання «Акту» може бути замінене аналогічними записами у «Журналі відбору біологічного матеріалу у живих осіб», якщо такий ведеться у відділенні.

При відібранні зразків крові в експертизі спірного батьківства, материнства, заміни дітей, тощо, в «Акті» обов'язково зазначається, чи були особи взаємно посвідчені. При процедурі відбору крові в приміщенні, де це відбувається, повинні бути присутні одразу всі підекспертні особи.

При відборі крові поза межами відділення зразки розміщують в одному пакеті, який в присутності підекспертних осіб заклеюється або зав'язується і опечатується, потім транспортується у відділення, де проводиться дослідження.

2.Визначення групи рідкої крові.

2. 1.За допомогою ізогемаглютинуючих сироваток анти-А і анти-В.

Ізогемаглютинуючі сироватки анти-А і анти-В є нормальними сироватками людини, які виготовляються на станції переливання крові. Перед дослідженням вони перевіряються відносно титру і специфічності. Титр сироваток перевіряється за допомогою однойменних стандартних еритроцитів: сироватка анти-А - еритроцитами групи А, сироватка анти-В – еритроцитами групи В. Специфічність сироваток досліджується різнойменними стандартними еритроцитами: сироватка анти-А – еритроцитами групи В, сироватка анти-В – еритроцитами групи А. Технічно це виконується так само, як і при визначенні групи рідкої крові (див. нижче). Сироватка вважається придатною, якщо з однойменними еритроцитами настає аглютинація, яку видно неозброєним оком, а з різнойменними – аглютинація відсутня, що перевіряється мікроскопічно.

В досліджуваній крові сироватку відділяють від еритроцитів центрифугуванням протягом 10 хв. при 1500об/хв. або відстоюванням протягом 3-4годин, після чого сироватку обережно переносять в іншу пробірку. Група рідкої крові визначається подвійним способом: за сироваткою і еритроцитами. Реакція протікає в пробірках, співвідношення сироваток і еритроцитів: 1:2. Тобто в пробірки з відповідними написами вносимо по 2краплі стандартних сироваток анти-А і анти-В та по 4краплі 1% зависі досліджуваних еритроцитів, в інші – по 2кр. досліджуваної сироватки та по 4краплі 1% зависі стандартних еритроцитів груп А і В. (сироватка анти-А та завись еритроцитів групи В позначаються червоним олівцем, сироватка анти-В та еритроцити групи А – синім олівцем). У випадку малої кількості досліджуваної крові співвідношення сироваток і еритроцитів можна зменшити: 1кр.сироватки та 2кр. зависі еритроцитів. Потім пробірки центрифугують протягом 4хв. при 1500об/хв. При дослідженні крові немовлят центрифугування можна подовжити до 10-20хвилин. Потім пробірки струшують і вміст підлягає макро- та мікроскопічному дослідженні.

Результати визначення групи рідкої крові.

Досліджувана кров	Стандартні сироватки		Стандартні еритроцити		Група крові
	а-А	а-В	А	В	
Кров №1	+	-	-	+	А з анти-В
Кров №2	-	+	+	-	В з анти-А
Кров №3	+	+	-	-	АВ.
Кров №4	-	-	+	+	0 з анти-А і анти-В

2.2. За допомогою моноклональних антитіл анти-А, анти-В, анти-Н.

Моноклональні антитіла (цоліклони) отримані за допомогою сучасних біотехнологічних методів. Ці антитіла продукуються спеціально сконструйованими клітинними лініями миші – гібридомами. Кожна гібридомна лінія продукує абсолютно гомогенні антитіла, які мають ідентичну хімічну структуру та біологічну активність.

Цоліклони судово-медичні (СМ) мають призначення для дослідження антигенів людини. Цоліклон анти-А виявляє антигени А1 і А2. Реакцію можна проводити на площині, в пробірках, мікроплаті.

2.2.1. Виявлення антигенів А і В.

Проводиться пробірковим методом, для чого використовують 3% завис одноразово відмитих досліджуваних еритроцитів в фізіологічному розчині хлориду натрію. Якщо кров має ознаки початкового гемолізу, її потрібно відмивати доти, поки надосадова рідина не стане прозорою. В пробірки розміщуємо по 2 краплі реагентів анти-А і анти-В, до них додають по 1 краплі вищезазначених досліджуваних еритроцитів. Вміст пробірок струшують і центрифугують 2 хвилини при 1500 об/хв. Облік реакції після легкого струшування: макро- та мікроскопічно.

Треба мати на увазі, що деколи при дослідженні трупної крові, яка зберігалася протягом певного часу, може спостерігатися слабе неспецифічне склеювання еритроцитів – аутоаглютинація. В таких випадках потрібно провести наступну пробу: досліджувані 3% еритроцити піддати центрифугуванню в зазначеному режимі без додавання реагентів. Якщо аглютинація спостерігається - групова належність крові визначається загальноприйнятими методами в сухому вигляді.

2.2.2. Виявлення антигену Н.

Техніка реакції не відрізняється від описаної вище для реагентів анти-А і анти-В. Але потрібно зауважити, що цоліклони анти-Н мають високу активність і в певних розведеннях реагують зі зразками крові усіх груп, оскільки антиген Н присутній в еритроцитах всіх індивідуумів, за винятком дуже рідких Н-дефіцитних фенотипів. У зв'язку з цим, потрібно вибрати робоче розведення, яке визначається шляхом титрування реагенту еритроцитами групи АВ, якщо останні, можливо, містять менше виражений антиген Н. В реакції використовується те мінімальне розведення реагенту, при якому аглютинація з указаними еритроцитами відсутня. З еритроцитами групи 0 при цьому повинна спостерігатися аглютинація, яку видно неозброєним оком. Еритроцити використовуються тільки ті, що взяті в день дослідження, розведення готується перед використанням (*ex tempore*).

2.2.3. Особливості роботи з моноклональними антитілами.

При роботі з моноклональними антитілами потрібно знати, що вони більш чутливі до забруднення лабораторного посуду, ніж аглютиніни ізо- та гетероімунних сироваток. Посуд повинен бути абсолютно знежиреним, інакше антитіла викликають прилипання еритроцитів до стінок пробірок, що робить

неможливим облік реакції. Отже, посуд після полоскання потрібно обробити сумішшю етилового спирту і ефіру в рівних пропорціях, а потім стерилізувати в сушильній шафі.

Виразність аглютинації, отриманої при використанні моноклональних антитіл, значно зменшується при струшуванні. Особливо це стосується слабо вираженої аглютинації. Отже, облік реакції потрібно проводити одразу після струшування пробірок, яке має бути легким і не більше двох разів.

2.3. Виявлення антигенів А і В в рідкій гемолізованій крові.

Готується три ряди розведень сироваток анти-А і анти-В на фізіологічному розчині хлориду натрію, вихідний титр яких 1:32.

В перший ряд – в кожену пробірку додається по 1 краплі фізіологічного розчину.

В другий – по 1 краплі нерозведеного досліджуваного гемолізату.

В третій - по 1 краплі досліджуваного гемолізату в розведенні 1:2.

Суміш всіх інгредієнтів витримуємо 1 годину при кімнатній температурі.

Потім в кожену пробірку додаємо по 1 краплі відповідних еритроцитів у вигляді 1% зависі і центрифугуємо при 1500 об./хв. протягом 4 хвилин.

Облік реакції на предметних скельцях під покривними проводиться мікроскопічно в ступенях поглинання.

Якщо виявити антигени не вдалося, досліджувана кров виливається на стерильну марлеву салфетку, висушується при кімнатній температурі подалі від нагрівальних приладів і без впливу сонячних промінів, зазвичай, це робиться у витяжній шафі, і підлягає подальшому дослідженню.

3. Визначення групи крові в зразках на марлі та в слідах на речових доказах.

В основному кров у відділення судово-медичної імунології поступає у сухому вигляді: - це зразки крові на марлі;

- сліди на різних предметах.

Оскільки антигени і ізогемаглютиніни зберігаються в сухій крові протягом тривалого часу, то група крові в сухій крові, як і в рідкій, визначається за антигенами і ізогемаглютинінами.

3.1. Виявлення антигенів А, В і Н методом абсорбції аглютининів в кількісній модифікації.

3.1.1. Виявлення антигенів А і В ізогемаглютинуючими сироватками анти-А і анти-В.

Для проведення реакції необхідні: ізогемаглютинуючі сироватки анти-А і анти-В, 1% зависі стандартних еритроцитів груп А і В. Реакція складається із наступних етапів:

1-й етап – титрування сироваток. Титром ізогемаглютинуючої сироватки називається те найбільше її розведення, в якому вона ще здатна склеювати

однойменні стандартні еритроцити. Титрування проводять в пробірках крапельним методом, зазвичай титрування кратне. Оскільки титр антигенів в слідах крові в середньому дорівнює 1:32, то і сироватки приводяться до титру 1:32. Для чого на пробірках відповідним олівцем робляться написи: Н, 2, 4, 8, 16, 32, 64. В кожену пробірку, окрім першої, додають по 2 краплі фізіологічного розчину, після чого в перші 2 пробірки (з написом Н і 2) - по 2 краплі сироватки, яка підлягає титруванню. Вміст пробірок ретельно перемішують і 2 краплі із пробірки «2» переносяться в пробірку з написом «4», і так далі по 2 краплі в кожену наступну пробірку до кінця ряду. Із останньої пробірки ряду 2 краплі взагалі видаляють. Титрування в кожному ряду проводять однією піпеткою, акуратно, намагаючись, щоб краплі попадали в центр пробірки і не залишалися на її стінках. Титрування сироваток анти-А і анти-В проводять різними піпетками. Потім в кожену пробірку ряду додають по 1 краплі 1% зависі відповідних стандартних еритроцитів: до сироватки анти-А – еритроцити групи А, до сироватки анти-В – еритроцити групи В. Пробірки центрифугують 4 хвилини при 1500 об/хв., після чого їх енергійно струшують 3-4 рази з однаковою силою. Облік реакції - спочатку макроскопічно, потім мікроскопічно.

Аглотинація, яку видно неозброєним оком позначають (+); знаком «+» позначають аглотинацію, коли майже всі еритроцити склеєні в конгломерати різної величини; знаку «+-» відповідають конгломерати середньої величини на фоні значної кількості не склеєних еритроцитів; знаку «-+ » відповідають дрібні аглотинати на фоні більшості не склеєних еритроцитів; знаком «--+ » (великий мінус, маленький плюс) позначають поодинокі аглотинати із 2-3 склеєних еритроцитів, основна маса еритроцитів не склеєна; знак «-» свідчить про повну відсутність аглотинації еритроцитів.

Сироватка з титром 1:32 повинна мати, приблизно, наступні позначення:

Н	2	4	8	16	32	64
(+)	(+)	+	+	+-	-+	-

При дослідженні старих або слабо насичених слідів сироватки приводяться до титру 1:16. В таких випадках можна рекомендувати розгорнуте титрування.

2-й етап – підготовка матеріалу. В кількісній модифікації реакція абсорбції проходить з двома сироватками і в певних кількісних співвідношеннях. Готуються дві наважки із плями крові та контрольної ділянки предмета-носія. Для чого чистими ножицями вирізають контрольні ділянки предмета-носія та зважують на торсійних вагах, подрібнюють і вносять в окремі пробірки з написами, який вказує номер об'єкту з літерою «К» (контроль), напис робиться олівцем, колір якого відповідає назві сироватки. Так само готують і дві наважки із плями. Вносять в дві пробірки з зазначенням номера об'єкту. Оптимальне співвідношення: це 25мг із плями та 0,15мл сироватки. Але в залежності від розмірів плями і її насиченості наважку можна як збільшувати, так і зменшувати.

Кількісні співвідношення наважки та сироватки:

Наважка (мг)	Кількість сироватки (мл)
50мг	0,3мл
25мг	0,15мл
20мг	0,12мл
15мг	0,1мл
10мг	0,09мл
5мг	0,06мл

III етап – абсорбція аглютининів. Пробірки з підготовленими наважками заливають відповідною кількістю сироватки і ретельно перемішують, після чого закривають ваткою і витримують в холодильнику при температурі 4-8° С протягом 6-18 годин.

Час абсорбції може бути різним у вказаних межах і залежить це від ряду факторів: давності утворення слідів крові, насиченості слідів, сили антигенів тощо. Зазвичай, максимум абсорбції досягається через 15-18годин.

IV етап – облік результатів абсорбції аглютининів. Щоб з'ясувати ступінь абсорбції аглютининів, абсорбовані сироватки титрують. Спочатку витяжки із пробірок переносять в інші пробірки з аналогічними написами та центрифугують 4хв. при 1500об/хв. Потім витяжки титрують описаним вище способом 1% зависями стандартних еритроцитів груп А і В.

Висновок про виявлення в плямі крові антигенів робиться на підставі порівняння титру сироваток до абсорбції і після неї з урахуванням всіх контрольних досліджень.

Починають дослідження із визначення титру сироваток, що збереглися як контрольні. Якщо титр контрольних сироваток значно знизився, то всі дослідження потрібно повторити.

Далі звертають увагу на титр сироваток, які підлягали абсорбції предметом-носієм. Якщо титр змінився, то предмет-носій має вплив на стандартні сироватки. Потім порівнюють ступінь абсорбції сироваток, що були в контакті з плямою крові і з предметом-носієм. Якщо сироватка, абсорбована плямою крові, знизилася свій титр на 3 ступені поглинання і більше (ступені поглинання – кількість розведень, в яких не спостерігається аглютинації еритроцитів абсорбованої сироватки при її наявності з відповідними розведеннями контрольної сироватки) в порівнянні з сироваткою, абсорбованою предметом-носієм, то можна вважати, що в досліджуваній плямі присутній антиген, який відповідає даній сироватці.

Якщо в плямі відповідний антиген відсутній, титр сироватки не зміниться.

Реакція абсорбції в кількісній модифікації моноклональними сироватками не відрізняється від описаної вище. При гнильних змінах в слідах крові використовувати моноклональні сироватки не рекомендується.

3.1.2. Виявлення антигену Н методом абсорбції в кількісній модифікації.

На сучасному етапі виявлення антигену Н можливе за допомогою лектину (лектини – це антитілоподібні речовини рослинного походження, що містяться в насінні та плодах) із плодів бузини трав'янистої, імунної сироватки анти-Н та моноклональної сироватки анти-Н.

Використання інших лектинів стало менш доступним у зв'язку з тим, що придбати їх складно та значно дорожче.

3.1.2.1. Виявлення антигену Н за допомогою екстракту анти-Н із плодів бузини трав'янистої (*Sambucus ebulus* L).

Принцип реакції – такий самий, як і при виявленні антигенів А і В в реакції кількісної модифікації.

Екстракт із плодів бузини трав'янистої використовують в титрі 1:12 - 1:16. Оптимальне співвідношення матеріалу і екстракту: 50мг і 0,3мл. Абсорбція проходить в холодильнику при температурі +4-8° С протягом 18-20 годин. Титрування екстракту проводиться в суміжних розведеннях в пробірках: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 14, 16. (див. таблицю).

Таблиця

Розведення	2	3	4	5	6	7	8	10	12	14	16	20
фіз.розчин в краплях	2	4	2	4	2	6	2	2	2	2	2	2
екстракт в краплях	2	2	(2)	1	(2)	1	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)	(2)

1кр. 3кр.

Примітка: (2) – відмічені краплі сироватки, які перенесені із попередніх кратних розведень.

Титрування проводять в 2-х краплях. Потім в кожному пробірці додають по 1 краплі 2% зависі стандартних еритроцитів групи 0. Центрифугування пробірок – 2 хвилини при 1500об/хв. Пробірки струшують в штативі. Облік реакції – макроскопічний і мікроскопічний.

Висновок про наявність в плямах антигену Н робиться при зниженні титру екстракту, абсорбованого прямою крові не менше ніж на 4 ступені поглинання, при відсутності зниження титру під впливом предмета-носія.

Наряду з вищезазначеним титруванням екстракту анти-Н можна рекомендувати при необхідності розгорнуте, але більш економне титрування в розведеннях: 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 24. При такому титруванні в пробірку «3» вносять 4 краплі фізіологічного розчину, у всі інші пробірки – по 2 краплі, а екстракту - по 2 краплі у пробірки «2» і «3», титрування проводиться у 4-х краплях. Всі інші маніпуляції такі ж, як вищезазначені.

3.1.2.2. Виявлення антигену Н імунною сироваткою анти-Н та моноклональною сироваткою анти-Н (цоліклоном) не відрізняється від

описаної вище методики для екстракту анти-Н. Потрібно тільки пам'ятати про особливості, що викладені в п.2.2.3.

3.2.Метод «навантаження» аглютинінами.

Виявленню антигенів в плямі крові методом абсорбції аглютининів часто заважає вплив предмета-носія на гемаглютинуючі сироватки. Специфічні (піт, слина, сеча тощо) і неспецифічні забруднення, а також сам матеріал предмета-носія може викликати зв'язування аглютининів сироватки, що утруднює або робить неможливим висновок про наявність чи відсутність певного антигену. За допомогою вищезазначеного методу можна послабити або зняти дію предмета-носія на хід реакції. Оскільки при реакції абсорбції на пляму крові діють як сама кров, так і матеріал речового доказу, а в контролі предмета-носія – тільки предмет-носії з тими забрудненнями, що є на ньому, тому повторне додавання сироватки дає можливість зрозуміти різницю між дією двох факторів в першому випадку і одного фактору - в другому.

При використанні методу «навантаження» аглютинінами потрібно пам'ятати:

- при проведенні повторних реакцій абсорбції аглютининів з одним і тим же об'єктом дослідження поступово знижується абсорбційна здатність антигенів, що містяться в ньому;
- у випадку присутності в плямі слабо виражених антигенів «навантаження» аглютинінами може бути малоефективним.

Але все таки можна рекомендувати узагальнюючі вказівки відносно титру і об'єму сироватки, що використовується при «навантаженні» аглютинінами. Зробити це можна в наступних модифікаціях:

- якщо показники зниження титру стандартних сироваток після взаємодії з плямою крові і предметом-носієм є високими (наприклад, 6 ступенів поглинання), при повторній абсорбції потрібно додати нову порцію сироваток в тому ж титрі і об'ємі, як і для першої абсорбції.

- якщо дані про антигени, що виявляються, в зразках або за даними першої абсорбції вказують на наявність у плямі слабо виражених антигенів, потрібно при «навантаженні» використовувати сироватки з нижчим титром, ніж в перший раз (наприклад, з титром 1:16 замість 1:32) і додавати в меншому об'ємі.

- якщо «навантаження» аглютинінами не зняло впливу предмета-носія на сироватки, потрібно повторно примінити цю методику, а при від'ємному результаті – повторити ще раз, враховуючи необхідні зміни в титрі і об'ємі сироваток.

- для «навантаження» аглютинінами використовуються сироватки тих же серій, що і при первинній реакції абсорбції, причому обидві сироватки вводяться в реакцію з однаковим титром і в рівних об'ємах, незалежно від того яка сироватка підлягала несприятливій дії предмету-носія.

3.3.Виявлення антигенів А,В і Н реакцією абсорбції-елюції.

Реакція використовується для виявлення антигенів у слідах малої величини (навіть менше 5мг крові).

Принцип реакції наступний:

в першій фазі (абсорбції) до плями крові додають стандартну сироватку і аглютиніни останньої абсорбуються відповідним антигеном крові. Потім проводиться відмивання і вільні неабсорбовані антитіла видаляються, але зв'язок антиген – антитіло не порушується.

В другій фазі реакції (елюції) руйнується зв'язок антиген-антитіло шляхом нагрівання і раніше абсорбовані антитіла виходять в навколишнє рідке середовище. Ці антитіла потім виявляються за аглютинацією доданих стандартних еритроцитів.

3.3.1. Виявлення антигенів А і В ізогемаглютинуючими сироватками анти-А і анти-В.

Підготовка матеріалу: виявлення антигенів можливе в слідах крові розмірами 0,2x0,2см або в окремих ниточках довжиною 0,5см. Кількість матеріалу з кров'ю і без крові (контроль предмета-носія) повинні бути однаковими.

Фіксація матеріалу: підготовлений матеріал поміщують в пробірки, або в лунки планшету, або на предметні скельця з лунками з відповідними написами і фіксують в метиловому спирті протягом 15 хвилин, чим досягається утворення воднево нерозчинної форми крові. Під час фіксації ниточки матеріалу бажано розшарувати в середній треті, повністю не порушуючи їх цільність. Після фіксації матеріал висушують при кімнатній температурі до повного випаровування метилового спирту, оскільки його залишки можуть викликати коагуляцію білків стандартних сироваток в фазі абсорбції.

Час фіксації і фіксує речовина можуть бути змінені в залежності від строку давності утворення кров'яної плями та можливої фіксує дії деяких факторів. Якщо речові докази, за даними слідства, піддавалися дії високої температури, сонячних променів, хімічних речовин тощо, метанол можна замінити на етанол, час фіксації – від 10 до 25 хвилин.

Однак, потрібно пам'ятати, що в деяких випадках навіть використання метанолу не приводить до повної фіксації сироваткових білків досліджуваної крові (власних аглютинінів крові). Останні можуть екстрагуватися із досліджуваної крові в фазі елюції і надалі можуть привести до отримання хибно позитивного результату.

Щоб з'ясувати це, необхідно провести додатковий контрольний дослід. Для чого шматочки або ниточки із плями і предмета-носія після фіксації заливають не сироваткою, а фізіологічним розчином хлориду натрію, зберігаючи всі наступні фази реакції (абсорбції, відмивання, елюції, обліку результатів). Наявність аглютинації в цьому досліді свідчить про недостовірність результатів. Для усунення впливу аглютинінів на результати реакції потрібно застосувати фіксацію матеріалу більш тривалу (інколи до декількох годин).

Підбір сироваток анти-А і анти-В: для реакції використовуються ізосироватки в титрі 1:128 і вище, який встановлюють, як звичайно, шляхом титрування.

Фаза абсорбції: кожний висушений після фіксації об'єкт і контроль до нього розділюють на 2 частини і поміщують в окремі пробірки, відповідно підписують, та заливають невеликим надлишком сироваток анти-А і анти-В. Пробірки закривають пробками.

В залежності від попередніх результатів дослідження зразків крові осіб, що проходять у справі, які досліджуються в реакції кількісної абсорбції (КРА), до проведення реакції абсорбції-елюції, а також в залежності від характеру і особливостей слідів крові на речових доказах (насиченості, давності утворення тощо), умови абсорбції можуть бути змінені. Антигени крові високої активності (5-6 ступенів поглинання в КРА) виявляються при абсорбції протягом 18-20 годин при температурі 4-8°C в холодильнику або на протязі 4-5 годин при кімнатній температурі. Слабо виражені антигени (3-4 ступенів поглинання) краще виявляються при комбінованих умовах. Так можна рекомендувати наступну схему: 1 годину при температурі 37°C, потім при кімнатній температурі протягом 3-4 годин і, нарешті, в холодильнику протягом 18-20 годин.

Відмивання неабсорбованих антитіл: використовується охолоджений фізіологічний розчин, для чого за 10-12 годин до початку фази відмивання його ставлять в холодильник, під час відмивання ємкість з розчином тримають на льоду. Відмивання найкраще проводити в планшеті з глибокими лунками, які на

2/3 заповнюють фізіологічним розчином. Кількість відмивань залежить від титру стандартних сироваток: чим вищий титр сироваток, тим більше кількість відмивань. Зазвичай, використовується 5-6 відмивань.

Пінцетом виймають досліджуваний об'єкт, просушують фільтрувальним папером, кладуть в першу лунку, промивають шляхом перемішування шматочка в лунці пінцетом (або продуванням) протягом 2хвилин і так в кожній наступній лунці, після промивання в останній лунці об'єкт знову просушують фільтрувальним папером. Після цього роблять пробу на чистоту відмивання об'єктів. Для чого додаткове відмивання кожного шматочка проводять в 2 краплях фізіологічного розчину, котрі переносять в аглютинаційні пробірки, додають 1 краплю 1% зависі стандартних еритроцитів груп А і В відповідно, в залежності з якою сироваткою був в контакт об'єкт, та центрифугують 4хв. при 1500об./хв. Відмивання вважається закінченим, якщо в препаратах повністю відсутня аглютинація стандартних еритроцитів.

Елюція абсорбованих аглютининів стандартних сироваток.

Якщо елюція протікає в фізіологічному розчині хлориду натрію, її проводять при температурі 50-52°C і, при температурі 48-46°C, якщо елюція протікає в зависі еритроцитів, протягом 20-25 хвилин в термостаті. Бажано пробірки, штативи, вологі камери теж прогріти до такої ж температури.

Існують два варіанти елюції: в фізіологічний розчин хлориду натрію та в завис стандартних еритроцитів груп А і В:

- елюція в фізіологічний розчин хлориду натрію.

Для елюції можна використовувати пробірки або предметні скельця (звичайні або з лунками), куди кладуть підготовлений дослідний матеріал і заливають 1-

2 краплями фізіологічного розчину. Пробірки закривають ватними пробками, а предметні скельця розташовують у вологих камерах (це можуть бути чашки Петрі, дно яких вкрите змоченим фільтрувальним папером), об'єкти на предметних скельцях не накривають покривними і розміщують у термостаті на 20-25 хвилин.

Після чого фізіологічний розчин переноситься в чисті аглютинаційні пробірки і в кожному з них додають по 1 краплі 0,5% зависі стандартних еритроцитів відповідно груп А і В, пробірки центрифугують при 1500об/хв. протягом 4хвилин. Облік реакції проводять макро- та мікроскопічно, попередньо злегка струсивши пробірки.

До вмісту на предметних скельцях додають по 1 краплі 0,5% зависі відповідних стандартних еритроцитів груп А і В і залишають у вологих камерах при кімнатній температурі на 2 години. Після чого препарати вивчають під мікроскопом без покривних скелець. Якщо у препаратах спостерігається аглютинація, то до них додають 1-2 краплі фізіологічного розчину, накривають покривними скельцями і проводять облік результатів реакції. Препарати, в яких не спостерігалася аглютинації еритроцитів, витримують у вологих камерах ще протягом 5-6 годин, періодично їх досліджуючи, після чого проводять кінцевий облік результатів. За час спостереження потрібно слідкувати, щоб препарати не підсихали, оскільки це може привести до утворення псевдоаглютинатів.

- елюція в завис еритроцитів.

Для елюції в завис еритроцитів можна використовувати пробірки або предметні скельця (звичайні або з лунками), куди поміщують підготовлений дослідний матеріал і заливають 1-2 краплями 0,3% зависі відповідних стандартних еритроцитів груп А і В.

Пробірки закривають ватними пробками, а предметні скельця розміщують у вологій камері і витримують у термостаті 20-25 хвилин. Потім пробірки, які дістали із термостату, охолоджують до кімнатної температури і, не витягуючи об'єкти із пробірок, центрифугують як зазначено вище. Пробірки струшують, рідину переносять на предметні скельця, накривають покривними і мікроскопують.

Об'єкти на предметних скельцях витримують у вологих камерах при кімнатній температурі протягом 2 годин, після чого препарати мікроскопують не накриваючи їх покривними скельцями. За наявності аглютинації до них додають 1-2 краплі неохолодженого фізіологічного розчину, накривають покривними скельцями і проводять облік реакції аглютинації. Препарати, в котрих відсутня аглютинація, спостерігають ще протягом 5-6 годин, зберігаючи їх у вологих камерах, після чого проводять кінцевий облік.

Облік реакції аглютинації.

Аглютинація стандартних еритроцитів груп А і В антитілами, що елюювалися, при відсутності аглютинації в препаратах з контрольними ділянками предметів-носіїв, свідчить про виявлення в об'єктах дослідження того ж антигену, який міститься в еритроцитах, що аглютинували.

Наприклад, аглютинація стандартних еритроцитів групи А при відсутності аглютинації стандартних еритроцитів групи В, дає змогу

припустити, що в об'єкті дослідження присутній антиген А і відсутній антиген В.

Щоб переконатися остаточно у правильності отриманих результатів, можна провести повторну елюцію антитіл. Якщо результат співпаде з тим, що був отриманий при першому досліді, висновок підтверджений.

Однак, потрібно пам'ятати, повторна елюція не завжди дає позитивний результат, який може залежати від повного елюювання антитіл при первинній елюції.

3.3.2.Проведення реакції абсорбції-елюції при впливі предмета-носія.

Реакція абсорбції-елюції в завис еритроцитів дає більш чітке виявлення антигенів в досліджуваних об'єктах, але наряду з цим спостерігається і більш виражений вплив предмета-носія на результати реакції.

В зв'язку з чим у випадках зв'язування стандартних сироваток контрольними ділянками предмета-носія слід проводити елюювання антитіл в фізіологічний розчин хлориду натрію.

Крім того в аналогічних випадках також можна:

- скоротити час абсорбції (можливо при сильному антигені);
- збільшити кількість відмивань;
- провести повторну реакцію абсорбції-елюції з тими самими об'єктами, починаючи з фази абсорбції;
- провести повторне елюювання антитіл з тими ж об'єктами (до досліджуваних об'єктів після обліку результатів реакції та одноразового промивання фізіологічним розчином знову додають завис еритроцитів або фізіологічний розчин і повторюють реакцію, починаючи з фази елюції антитіл. При проведенні елюції в фізіологічний розчин в пробірках можна використовувати сироватки з більш високим титром і в більшому об'ємі, що дає можливість неодноразового проведення повторних елюцій до усунення впливу предмета-носія);
- скоротити час першої елюції і використати різні по часу повторні елюції;
- промити досліджувані об'єкти і контрольні ділянки дистильованою водою протягом 3-х годин, через кожен годину змінюючи воду ;
- провести екстрагування об'єктів і контрольних ділянок дистильованою водою та виготовити плями на іншому предметі-носії.

3.3.3.Використання моноклональних реагентів в реакції-абсорбції елюції.

Етапи проведення реакції не відрізняються від описаних при використанні ізогемаглютинуючих сироваток.

Однак, є ряд особливостей, які потрібно враховувати: попередня обробка досліджуваного матеріалу ферментним розчином, введення антитіл в реакцію в певних титрах, елюювання антитіл на площині, скорочення строків абсорбції.

Попередню обробку досліджуваного матеріалу рекомендовано проводити за допомогою 0,1% розчину трипсину з рН – 7,2. Загально прийняті способи обробки (спиртом) недостатньо ефективні по відношенню до

перехресних реакцій моноклональних антитіл з антигенами іншогрупних зразків, особливо при дослідженні бактеріально забруднених слідів, а також слідів з невеликою давністю утворення (1-2 місяці).

Ферментний розчин готують наступним чином: 10мг трипсину змішують з 9мл фізіологічного розчину і залишають на 1 годину при кімнатній температурі. Після повного розчинення трипсину об'єм розчину доводять до 10мл фосфатним буфером Зеренсена, контролюючи рН. До досліджуваного матеріалу додають приготовлений розчин трипсину з невеликим надлишком. Якщо досліджуваний шматочок складається із декількох шарів матеріалу, його потрібно розшарувати, щоб був доступ ферменту до всіх шарів об'єкту. Трипсинізацію проводять в термостаті при 37° С протягом 30 хвилин. Після чого трипсин видаляють, досліджуваний матеріал двічі промивають фізіологічним розчином і висушують на фільтрувальному папері.

Моноклональні антитіла використовують в титрі не нижче 1:128 і не вище 1:1024. Абсорбція протікає від 2-х до 18годин і залежить від особливостей досліджуваного матеріалу (насиченості слідів, їх давності тощо), а також наявності або відсутності впливу предмета-носія. У всіх випадках при виборі потрібного варіанту попередньо потрібно зробити дослідження зі зразками крові підекспертних осіб та відомими зразками, які містять і не містять відповідний антиген.

При виражених гнильних змінах крові використовувати моноклональні реагенти не рекомендовано.

3.4. Виявлення ізогемаглютинінів в слідах крові.

Встановлення групи крові в плямах, як і в рідкій крові, визначається за антигенами і ізогемаглютинінами. Аглютиніни, як відомо, менш стійкі до впливу факторів зовнішнього середовища, особливо таких як температура, вологість та бактеріальне забруднення.

Виявленню аглютинінів заважають: їх руйнування в плямі, початковий низький титр, нерозчинність крові в старих плямах. Крім того, аглютиніни не однаково зберігаються на різних ділянках однієї плями.

Тому діагноз групи ставиться, в першу чергу, на підставі чітко виявлених антигенів, визначення ж аглютинінів потрібно обов'язково проводити, якщо розміри плями дозволяють це зробити.

Для виявлення α и β – аглютинінів в плямах крові використовують наступні методики:

3.4.1. Метод покривного скла за Ляттесом.

Із досліджуваних об'єктів та зразків крові підекспертних осіб роблять по три вирізки розмірами 0,3x0,3см або 0,5x0,5см. За наявності крові на поверхнях, що не всмоктують кров, беруть зішкреби у вигляді сухих кірочок, котрі розміщують на предметних скельцях під покривні і додають по 2-3 краплі 0,25% зависі стандартних еритроцитів груп А, В і О. Препарати поміщують у вологі камери і протягом 24 годин періодично вивчають під мікроскопом.

Позитивним результатом реакції вважається наявність аглютинації еритроцитів А або В (А і В одночасно) з матеріалом об'єктів при відсутності аглютинації з еритроцитами групи О.αβ.

3.4.2.Метод екстрагування.

У випадку, коли пляма слабо насичена, сліди крові поверхневі або старі, замиті, застосовують метод екстрагування. Для чого пляму подрібнюють, заливають дистильованою водою без надлишку і залишають для екстрагування при температурі 4-8°С від декількох годин до доби. Після екстрагування витяжку відсмоктують і обережно, повторюючи декілька разів, нашаровують по одній краплі на предметне скло в 3-х місцях до підсихання. Після отримання насичених кірочок, їх накривають покривними скельцями, під них підводять 0,25% завис стандартних еритроцитів груп А,В і О.

3.4.3.Метод Марцинківського.

В процесі дослідження проводять накопичення аглютининів за допомогою смужок фільтрувального паперу, які вставляються у витяжку із плями крові. Смужку паперу залишають у витяжці на час від 30хвилин до 1-2діб (в залежності від давності утворення плями). На вільному кінці смужки виникають червоно-бурі або коричнево-бурі плями, які зрізують, розміщують на предметних скельцях і проводять реакцію, як зазвичай, методом покривного скла.

3.4.4.Метод Кісіна.

До 1 краплі витяжки із плями в окремих пробірках додають по 2краплі 0,5% зависі стандартних еритроцитів груп А,В , О. Пробірки поміщують в термостат на 2,5 години при температурі 37°С. Облік реакції проводять мікроскопічно після охолодження і центрифугування протягом 4 хвилин при 1500об./хв.

3.4.5.Метод Серопяна.

Ниточки із плями крові довжиною 0,5см в окремих пробірках заливають 0,25% зависсю стандартних еритроцитів А, В, О і залишають на 1год при кімнатній температурі, періодично струшуючи. Потім пробірки послідовно розміщують на 10хв. в термостаті при температурі 50°С і на 10хв. в морозильній камері. Облік результатів реакції проводиться мікроскопічно після центрифугування пробірок протягом 3-х хвилин при 3000об/хв..

4.Диференціація антигенів крові та виділень людини у змішаних слідах (за М.С.Свірським).

Якщо в одних і тих же слідах виявлено кров змішану з якимось із виділень людини, для диференціації антигенів крові і виділень доцільно скористуватися методикою М.С.Свірського, яка дозволяє провести диференціацію крові і виділень в таких сумішах: кров-сперма, кров-слина,

кров-піт, кров-сеча, а також в суміші виділень – сперма-піт, сперма-сеча, сперма-слина.

Метод заснований на різній чутливості антигенів крові та виділень до фіксуєної дії високої температури, що обумовлюється морфологічними особливостями досліджуваних біологічних субстратів. Антигени крові системи АВО розташовані в основному в мембрані еритроцитів і являють собою гліколіпіди і відповідно знаходяться в структурно зв'язаному стані. У виділеннях, навпроти, антигени знаходяться в розчинному, вільному стані і являють собою глікопротеїни.

Було встановлено, що, очевидно, під дією високої температури в крові відбувається денатурація білкових молекул, які міцно поєднані з гліколіпідами, внаслідок чого антигени втрачають здатність екстрагуватися дистильованою водою. Проте, теплова обробка і наступна денатурація білків істотно не впливає на екстрагування водою антигенів виділень, оскільки вони в основному складаються із вуглеводних ланцюгів, які не мають міцного зв'язку з білковими молекулами, кількість яких відносно невелика. Тобто, у водний екстракт переходять антигени досліджуваних виділень, а антигени крові не переходять.

Поряд з тим, групоспецифічні антигени крові (гліколіпіди) добре екстрагуються органічними розчинниками, а антигени виділень (глікопротеїни) ними не екстрагуються.

Але потрібно пам'ятати, що сумішшю органічних розчинників (н.бутанол-метанол) не екстрагуються антигени слини, поту і сечі, але екстрагуються антигени крові і сперми, що вказує на наявність в спермі антигенів у глікопротеїнових і гліколіпідних сполученнях.

Отже, перед проведенням дослідження потрібно чітко визначити, які виділення у вигляді домішки присутні в плямі крові або сперми і відповідно підготувати попередньо відомі зразки цих виділень або виділень і крові на марлі для використання їх при постановці досліду. Обов'язково в реакцію вводяться зразки крові та виділень осіб, що проходять у справі.

Постановка реакції.

Вирізки із всіх вищезазначених зразків, об'єктів та контролей до них розмірами 0,5x0,5см у відповідно маркованих відкритих чашках Петрі прожарюють в термостаті при температурі +115° С протягом години, або 50хв. при температурі +120° С, після чого вирізки переносять в пробірки і до кожної додають по 6 крапель дистильованої води. Екстрагування відбувається протягом 20 годин при температурі +4-8° С. Отримані екстракти переносять в окремі центрифужні пробірки і центрифугують при 1500об/хв. протягом 5хв. Після чого надосадову рідину переносять на стерильні ниточки марлі шляхом багаторазового нашарування з підсушуванням після кожного разу нашарування. З виготовленим таким чином матеріалом проводять реакцію абсорбції-елюції як звичайно.

Вирізки, що залишилися після екстрагування заливають 6 краплями н-бутанолу, змішаного з метанолом у співвідношенні 2:1 і прогрівають протягом 4годин при температурі +65° С. Отримані екстракти аналогічно

вищеописаному переносять на стерильні ниточки марлі. З отриманим матеріалом так само проводять реакцію абсорбції-елюції. (Див. таблицю).

Таблиця.

Результати реакції абсорбції-елюції диференціювання антигенів у «змішаних» слідах.

Об'єкт дослідження	Е К С Т Р А Г У В А Н Н Я	
	дистильованою водою після дії температури	сумішшю органічних розчинників
1.Кров	-	+
2.Сперма	+	+
3.Слина	+	-
4.Піт	+	-
5.Сеча	+	-

Однак, звертаємо увагу, що експериментальними дослідженнями В.І.Чарного та О.Є.Гальцевої було встановлено, що запропоновані методи диференціювання антигенів крові та слини повністю не забезпечують необхідних стабільних та достовірних результатів. Так, було встановлено, що в поодиноких випадках прогрівання не фіксувало антигенів крові в плямі, вони виходили у водневий екстракт і були виявлені реакцією абсорбції-елюції.

В бутанольному екстракті антигени крові були виявлені тільки в половині випадків, в решті випадків вони не виявлялися. Тобто, це доводить, що антигени крові виходять в бутанол тільки частково. Це створює можливість не виявлення в бутанольному екстракті тих антигенів крові, що мають низьку абсорбційну здатність. При цьому антигени слини в ряді випадків виходили в бутанольний екстракт. Це свідчить про те, що деякі фракції водорозчинних антигенів виділень мають здатність розчинятися в спиртах.

5. Загальні основи формування підсумків у «Висновку експерта» в експертизах слідів крові та їх зразки (підсумків).

Підсумки – заключний і складний етап експертної роботи. Вони повинні бути чіткими, повними, сформульованими в стислій формі у вигляді відповідей на поставлені питання в певній послідовності.

На кожне з поставлених питань відповідь надається по суті або зазначається з якої причини воно не може бути вирішене.

Отже, спочатку вказуються дані про групову приналежність зразків крові осіб, що проходять по справі (доставлених для порівняння);

Надалі фіксуються результати проведених досліджень слідів на речових доказах в такій послідовності:

- інформація про наявність та вид крові в слідах на речових доказах, зазначивши кожен предмет, що підлягав дослідженню та номери об'єктів на них ;

- якщо це кров людини, перераховується в яких об'єктах, які антигени та ізогемаглютиніни виявлені;

- висновок про групи крові, куди входять виявлені антигени; якщо виявлені антигени і ізогемаглютиніни – висновок про конкретну групу крові;

- висновок про можливість або неможливість походження крові від осіб, що проходять у справі.

При відповіді на питання, які поставлені на вирішення експертизи, спочатку викладаються отримані позитивні результати, в кінці – від'ємні і дається, по можливості, їх обґрунтування.

В підсумках не потрібно зазначати якою реакцією встановлювалася наявність крові, вид крові та виявлялися антигени, про це детально викладається в дослідній частині висновку. Якщо виявлений один із антигенів, вказувати, що інші антигени не виявлені, непотрібно; результати таких досліджень зазначаються в таблиці.

В ході проведення досліджень у експерта може виникнути потреба направити сліди на речових доказах для дослідження у відділення судово-медичної цитології (встановити статеву приналежність крові, її регіональне походження тощо). На підставі отриманих результатів експерт буде більш детальні, розширені підсумки.

Приклади підсумків:

I.Фабула: в парку виявлено труп гр. К. з множинними ножовими пораненнями.

В скоєні злочину підозрюється гр. С., у якого вилучено куртку та джинси зі слідами схожими на кров.

Згідно «Акту» №2 від 09р, складеного у відділенні судово-медичної цитології: «Кров в об. № 1-7 на куртці та джинсах належить особі жіночої генетичної статі»

Підсумки

1.Кров із трупа потерпілої К. відноситься до групи 0 з ізогемаглютинінами анти-А і анти-В за ізосерологічною системою АВО.

2.Кров підозрюваного С. відноситься до групи 0 з ізогемаглютинінами анти-А і анти-В за ізосерологічною системою АВО.

3.В слідах на куртці (об.№1-3) та джинсах (об.№4-7), що належать підозрюваному С., знайдена кров людини. При серологічному дослідженні у зазначених об'єктах виявлені антиген Н та ізогемаглютиніни анти-А і анти-В.

Таким чином, кров у вказаних слідах може походити від особи (осіб) групи 0 з ізогемаглютинінами анти-А та анти-В жіночої генетичної статі і може належати потерпілій К.

II.Фабула: скоєно вбивство гр. А. невідомою особою. Труп виявлений в сараї. При огляді місця події вилучено: лопату, вили, зроблені змиви на тампони із дерев'яної драбини, підвіконня, стіни.

Підсумки.

1.Кров із трупа потерпілого А. відноситься до групи А з ізогемаглютиніном анти-В та супутнім антигеном Н за ізосерологічною системою АВО.

2.В слідах на лопаті (об.№1-3), вилах (об.№4-5), тампонах зі змивами із драбини (об.№6-7), підвіконня (об.№8) та стіни (об.№9) знайдена кров. Встановлено, що в об. №4-5 – це кров рогатої худоби, у всіх інших об'єктах – кров людини.

При серологічному дослідженні в об.№1-3,6-7,9 виявлені антигени А і Н, крім того, в об.№1,6,7 – ізогемаглютинін анти-В. В об.№8 виявлено антиген Н та ізогемаглютиніни анти-А та анти-В.

Таким чином, виявлені властивості в слідах на лопаті, тампонах зі змивами з драбини та стіни можуть належати особі групи крові А з ізогемаглютиніном анти-В і супутнім антигеном Н за системою АВО, що не виключає можливості належати крові самому потерпілому А.

У випадку можливого змішування крові двох або більше осіб в одних і тих же слідах, домішка крові особи групи О з ізогемаглютинінами анти-А і анти-В не виключається.

Кров в тампоні зі змивом з підвіконня за виявленими властивостями може належати особі (особам) групи О з ізогемаглютинінами анти-А і анти-В і не належить потерпілому А.

Ш.Фабула: гр-нові С. нанесені тяжкі тілесні ушкодження в під'їзді будинку, де він проживає.

На експертизу доставлений тампон зі змивом речовини бурого кольору, зроблений зі сходової площадки.(змив з контрольної ділянки площадки, що знаходилася в безпосередній близькості від плями бурого кольору у відділення не доставлено).

Підсумки.

1.Кров потерпілого С. відноситься до групи А з ізогемаглютиніном анти-В.

2.На ватному тампоні зі змивом рідини бурого кольору знайдена кров людини (об.№1). При серологічному дослідженні у зазначеному об'єкті виявлені антигени А і В.

Таким чином, оскільки для дослідження не доставлено контроль предмета-носія (змив з ділянки, що знаходилася в безпосередній близькості від плями крові), зробити категоричний висновок про групову належність крові на підставі серологічного дослідження тільки тампону-змиву з кров'ю не є можливим.

Однак, якщо вважати виявлені властивості достовірними, то кров на зазначеному тампоні може походити від особи (осіб) групи АВ або бути змішаною кров'ю осіб груп крові з будь-яким сполученням вказаних антигенів.

Якщо ж мав місце вплив предмета-носія на одну із використаних ізогемаглютинуючих сироваток (зокрема, сироватку анти-В), походження крові від особи (осіб) групи А з ізогемаглютиніном анти-В ізосерологічної системи АВО не може бути виключеним, яким міг бути і гр. С.

В И С Н О В К И

При проведенні судово-медичної експертизи речових доказів основне завдання, що підлягає вирішенню – кому із підекспертних може належати кров. Запропоновані методичні рекомендації «Дослідження рідкої крові та її слідів на речових доказах» дадуть змогу вибрати оптимальну методику дослідження слідів на речових доказах для вирішення цього завдання навіть у мікрослідах, слідах з великим строком давності утворення, або у випадках, коли ці сліди намагалися знищити.

Це дозволить скоротити термін виконання експертиз і покращити їх якість.

Література.

1. А.К.Туманов «Основы судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств», Москва, «Медицина», 1975г.,210 стр.
2. Р.Г.Геньбом, Н.П.Корнеева-Асадчих «Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств», Москва, «Медицина»,1972г.,76стр.
3. Загрядская А.П. Методические рекомендации «Применение люминесцентной микроскопии при судебно-медицинском исследовании крови, спермы, клеток влажалищного эпителия, волос», Горький, МЗ РСФСР, Горьковский мединститут им.С.М.Кирова,1982., 16стр.
4. Кисин М.В., Паршиков Ю.И. Методическое письмо «Экспрессный метод хроматографического исследования некоторых микрообъектов судебно-биологической экспертизы», Москва,МВД СССР, ВНИИ,1981г., 18стр.
5. «Наставление по применению сывороток диагностических, преципитирующих сывороточные белки крови человека, лошади, рогатого скота, свиньи, собаки, кошки, кролика, курицы, адсорбированных жидких для судебно-медицинских целей». МЗ СССР, Москва, МЗ СССР.1974г., 4стр.
6. Методическое письмо «О применении в судебно-медицинской практике реакции преципитации в геле», Москва, МЗ СССР,1963г.,4стр.
7. Методические рекомендации «Установление видовой принадлежности крови и некоторых других биологических объектов методом встречного иммуноэлектрофореза», Москва, МЗ СССР, Главное Управление лечебно-профилактической помощи,1976г.,10стр.
8. В.В.Томилин, Л.О.Барсегянц, А.С.Гладких «Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств»,Москва, «Медицина»,1989г., 44стр.
9. Л.О.Барсегянц «Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств», Москва, «Медицина»,2005г.,157стр.
10. А.К.Туманов «Дифференциация крови человека иммунологическими и биохимическими методами. Основы судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств»,Москва,1979г. 34стр.
11. М.Бетхе, М.Бронникова, М.Кисин, Г.Мильке, Т.Стегнова, «Группо-специфическая антигенная дифференциация микрообъектов судебно-биологической экспертизы», Москва,1977г., 22стр.
12. Сборник «Актуальные проблемы практической судебно-медицинской экспертизы» Выпуск I. Ростов-на-Дону,2000г., 37стр..
13. Инструкции и методические указания «Организация и производство медицинских судебных экспертиз», Минск, УП «Светоч»,2004г.,135стор.
14. Стегнова Т.В., Уалерианова Л.П. «Основы формирования заключения эксперта при производстве судебно-биологической экспертизы», Москва, ЭКЦ МВД России,1993р. 20стор.

