

Міністерство охорони здоров'я України

Судово-медичне дослідження волосся, кісток, м'яких тканин та органів.

(Методичні рекомендації)

Київ 2011

Міністерство охорони здоров'я України

«УЗГОДЖЕНО»

Директор Департаменту
розвитку медичної допомоги
МОЗ України



М.К.Хобзей
2011р.

Судово-медичне дослідження волосся, кісток, м'яких тканин та органів.

(Методичні рекомендації)

Київ 2011

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)

Бачинський Віктор Теодосович д.мед.н., професор, (0372-52-67-67)

Рецензенти:

Сухий Валентин Дмитрович директор Центру судових експертиз МО
України, к.мед.н.

Старовойтова Ріоріта Олексіївна завідувач відділенням
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.**

Зміст

Вступ	4
РОЗДІЛ І. Судово-медичне дослідження волосся	5
1. Схема опису стрижня волосини.....	6
2. Порівняльне дослідження волосся.....	7
3. Виявлення групових антигенів за системою АВО у стрижнях волосин	8
РОЗДІЛ ІІ. Судово-медичне дослідження кісток, м'яких тканин (м'язів) та органів	11
1. Встановлення видової належності кісток, виявлення групових антигенів.....	11
2. Виявлення групових антигенів у м'яких тканинах (м'язах) та органах.....	13
3. Виявлення групоспецифічних антигенів системи АВО в фарбованих гістопрепаратах.....	14
РОЗДІЛ ІІІ. Основи формування підсумків «Висновку експерта», зразки підсумків	15
Висновки	19
Література	20

Вступ.

В судово-медичній практиці волосся частіше досліджується у справах, які пов'язані з розкриттям статевих злочинів, транспортних пригод, а також при дослідженні скелетованих та гнилісно-змінених трупів.

Таке дослідження є одним із складних, тому що в значній мірі базується на ряді суб'єктивних ознак.

Оскільки кореневі кінці не завжди дають можливість провести ДНК-аналіз, встановити статеву належність, морфологічне дослідження та встановлення групової належності стає головним при проведенні експертиз волосся.

За останній час збільшилася кількість експертиз, що пов'язані з дослідженням залишків кісток. Результати таких досліджень бувають нечіткими. Методичні рекомендації з цього приводу, що були видані ще за часів бувшого Радянського Союзу, не задовольняють потреб судових експертів.

Завдання цих методичних рекомендацій – звернути увагу експертів на технічні моменти судово-медичного дослідження волосся, кісток, тканин, органів, які мають важливе значення при трактовці отриманих результатів. Вони також пропонують методики найбільш раціонального та ефективного виявлення групових властивостей у волоссі, кістках, м'яких тканинах, органах, які відпрацьовані на багаточисельних зразках і є узагальненим досвідом таких досліджень як вітчизняних, так і іноземних колег.

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

Розділ І. Судово-медичне дослідження волосся.

Експертизу волосся рекомендовано починати з об'єктів, що вилучені з місця події, тобто, доставлені на дослідження як речові докази. Спочатку обов'язково досліджують їх в сухому вигляді. Мета такого дослідження – виявити волосини, які мають кореневий кінець у вигляді цибулини з піхвовими оболонками, описати їх і відокремити для ДНК-дослідження або встановлення статевої належності. Питання про можливе ДНК-дослідження потрібно обговорити зі слідчим ще при поступленні речових доказів у відділення, особливо за наявності поодиноких волосин, вилучених з місця події. Це стосується і можливості використання волосин для виявлення групових антигенів (бажано отримати письмовий дозвіл слідчого). Виявлення групових властивостей у поодиноких волосинах, виявлених з місця події, можна проводити тільки, якщо ці волосини будуть схожі зі зразками волосся, доставленого для порівняння. В протилежному випадку вони залишаються для подальшого дослідження.

Надалі волосся досліджується в середовищах, які просвітлюють його, (найкраще для цього використовувати ксилол) і тільки при дослідженні світлого волосся таким середовищем може бути етиловий спирт, дистильована вода, гліцерин тощо. Обов'язково потрібно зазначити при якому освітленні проводиться дослідження (природне чи штучне), вид мікроскопії та його збільшення.

Серед вилучених об'єктів подібних до волосся, можуть бути різні волокна, які надалі у відділенні не досліджуються. Вони підлягають поверненню слідчому для можливого дослідження лікарями-судово-медичними експертами-криміналістами. (Інколи деякі особливості будови волокон можуть «симулювати» кіркову речовину або серцевину волосся і тільки виявлення специфічного рисунку кутикули може з достовірністю віднести об'єкт до волосин або волокон).

Також можуть бути виявлені волосини тварин. В такому випадку експерт може обмежитися лише висновком, що волосся належить тварині. В ряді випадків можна дослідити це волосся з метою встановлення сімейства і роду тварини шляхом порівняння їх з колекцією волосся тварин, якщо вона є у відділенні, а також використовуючи атлас волосся тварин (наприклад, «Волосы животных как объект судебно-биологической экспертизы» під редакцією проф. М.А.Броннікової).

Після встановлення належності волосся людині визначається його регіональна належність, відповідно до цього експерт звертається до слідчого з проханням надати зразки волосся з відповідної області тіла людини для порівняння, оскільки порівняльному дослідженню підлягає волосся тільки з однакових областей тіла людини. Якщо зразки волосся надаються з голови людини, їх потрібно доставити у відділення (або взяти у відділенні) з п'яти ділянок: лобної, правої і лівої скроневих, тім'яної та потиличної в кількості не менше 10-15 штук з кожної ділянки.

1.Схема опису стрижня волосини.

Опис стрижня волосини має бути послідовним: або із зовні до середини (з опису оптичного краю до серцевини) або з середини до зовні (з опису серцевини до оптичного краю).

1.1.Опис оптичного краю: зубчастість (виражені зубці чи ні), величина зубців, рівномірність їх розташування (зближені, віддалені).

Кутикула – проглядається чи ні, якщо так, описати її вигляд, колір.

1.2.Опис кіркової речовини: займає основну масу товщини волосини або всю, її колір, наявність чи відсутність пігменту, якщо пігмент присутній, вказується його колір, характер – величина зерен (дрібнозернистий, середньозернистий, крупнозернистий); дифузний пігмент або його скупчення у вигляді тяжів, ланцюжків, мазків без чітких контурів, тощо; розташування пігменту – периферичне, центральне; рівномірне чи на одній половині волосини, рівномірне по довжині волосини. Наявність пігментофорів, якщо вони є, описати: їх форму, величину, кількість (поодинокі чи скупчення), розташування, наявність або відсутність відростків, наявність зерен пігменту і його колір; наявність пустот, тріщин, подовжньої покресленості, ступінь її виразності.

1.3.Опис серцевини: відсутність чи наявність, якщо є, то у вигляді острівців, безперервного чи переривчастого тяжу, його рівномірність (рівномірний, нерівномірний), контури – рівні чи нерівні, яку частину товщини волосини складає, розташування (центральне, периферичне), структурність.

1.4.Опис кореневого кінця-цибулини: форма цибулини, наявність в ній пігменту, кліткових елементів, тріщин, пустот. Присутність і стан піхвових оболонки і їх розташування по відношенню до цибулини. Якщо цибулина і оболонки відсутні – стан зім'ятих кутикулярних лусочок – наявність так званої «вуалі». Якщо цибулина відсутня - надається опис поверхні перетину та оптичних кутів (див. опис периферичного кінця).

1.5.Опис периферичного кінця: перетин (поперечний, косий), поверхня перетину (майже рівна, дрібногорбиста, крупногорбиста, наявність виступів, тріщин в кірковій речовині тощо); оптичні кути – гострі, заокруглені, злегка заокруглені; периферичний кінець - може бути як: голкоподібно-витончений, мітлоподібно розщеплений, у вигляді пензлика тощо.

1.6.Схема опису рисунка ліній кутикули.

Так званий рисунок ліній кутикули – це вільні краї клітин кутикули, які утворюють тонкі лінії, що розташовані поперек або навкіс до подовжньої осі волосини.

Отже, перше – це складність рисунка (складний, простий, середньої складності). Прилеглисть або віддаленість ліній (лінії віддалені, прилягають одна до одної, місцями прилягають, місцями віддалені тощо). Їх хвилястість (злегка хвилясті, хвилясті, переплітаються між собою, мають язикоподібні виступи, зигзаги, майже рівні тощо). Зазубленість ліній (дрібно зазублені).

1.7.Схема опису поперечних зрізів: форма, величина, колір кіркової речовини (для пофарбованого, знебарвленого волосся), колір та характер пігменту, ширина кутикули, її колір.

1.8.Опис пошкоджень, ознак характерних для захворювання волосся, отриманих від дії високої температури, хімічних речовин тощо.

2.Порівняльне дослідження волосся.

Питання про подібність і відмінність волосся з метою встановлення можливості його походження від конкретної особи є найбільш складним і важливим етапом дослідження. Адже навіть волосся однієї людини може мати ознаки відмінності, а волосся різних осіб може виявляти ознаки подібності. Тому експертиза волосся не встановлює тотожності волосся, а тільки встановлює подібність (схожість) або його неподібність.

Порівняльне дослідження волосся проводиться в одному полі зору, співставляти належить однакові ділянки волосин (кореневі кінці до кореневих, периферичні до периферичних тощо), робити це треба в стислі терміни після морфологічного дослідження, поки всі ознаки «свіжі» в пам'яті експерта. Для порівняння вибирають найбільш подібні між собою волосини і виявляють в них ознаки, за якими вони різняться. Спочатку порівнюється між собою волосся, що вилучене з місця події. Потім порівнянню між собою підлягає волосся-зразки особи (осіб), що проходять у справі, надалі – волосся, вилучене з місця події, порівнюється з волоссям-зразками кожної особи (якщо їх двоє або більше).

Найбільшу інформативність для вирішення зазначених питань містить кірковий шар, тому його вивченню і опису надається найбільша увага. Порівнянню не підлягає фарбоване, знебарвлене та сиве волосся, оскільки не містить пігменту, або його зерна нечіткі, розмиті.

Дані про серцевину, оптичний край та рисунок кутикули відносяться в основному до видових ознак. Лише подекуди, при виявленні суцього індивідуальних ознак, вони можуть мати значення при порівняльному дослідженні у сукупності з основними даними. Це ж відноситься і до таких ознак як довжина і товщина волосся.

Важливе значення при порівняльному дослідженні також мають особливі індивідуальні властивості (особливий вид скупчень, розміри і розташування пігментофорів, розширення і звуження по ходу волосин, наявність ознак захворювань, особливості цибулин тощо).

Урахування всіх цих ознак і особливостей надасть можливість порівняльному дослідженню набути доказового значення.

Морфологічне порівняння волосся, вилученого з місця події, зі зразками волосся, осіб, що проходять у справі, можна не проводити тільки при виявленні у них іншої статевої або антигенної характеристики.

3. Виявлення групових антигенів за системою АВО у стрижнях волосин реакцією абсорбції-елюції.

Для встановлення антигенної характеристики волосся потрібно пам'ятати, що у волоссі групоспецифічні антигени розташовані нерівномірно і для їх виявлення, по можливості, потрібно вводити як можна більшу кількість фрагментів волосин. До того ж антигени у волоссі виражені значно слабше ніж в плямах крові, що доводить необхідність робити запит зразків крові (краще в рідкому вигляді) і під контролем їх групової належності проводити виявлення групових антигенів у волоссі. Паралельно досліджуються зразки волосин, що були відібрані у осіб відомих груп крові з різною абсорбційною здатністю і зберігалися у архіві відділення, а починати дослідження потрібно зі зразків волосин осіб, що проходять у справі.

Пропонуються наступні модифікації реакції абсорбції-елюції для виявлення групових антигенів у стрижнях волосин.

1-ий варіант.

Техніка реакції.

Відібрані волосини промивають в теплій воді з милом, прополіскують в двох порціях дистильованої води і знежирюють в суміші Нікіфорова протягом 15 хв. Після висушування волосини роздавлюють на скляній поверхні (предметних скельцях) за допомогою аглютинаційної пробірки або спеціального пристрою, розрізають на фрагменти довжиною 0,4-0,5см і, по можливості, розщеплюють їх на 2/3 довжини. Фрагменти волосин розміщують у пробірках по 3-4 шматочки. Для абсорбції використовують ізогемаглютинуючі сироватки анти-А і анти-В з титром 1:128-1:256, лектин анти-Н або цоліклон анти-Н в титрі 1:64. Абсорбція проходить протягом 18-20 годин при температурі +4-6°C в холодильнику. Не зв'язані антитіла видаляють 4-х разовим відмиванням в лунках імунологічних планшетів охолодженим фізіологічним розчином хлориду натрію.

Елюцію антитіл проводять в пробірках або на скельцях з лунками у вологих камерах в 0,25% розчині зависі тест-еритроцитів груп Аβ і Вα відповідно. Елюція для виявлення антигену Н проводиться на скельцях у вологих камерах в 0,1% розчині зависі тест-еритроцитів групи 0αβ при температурі 48-50°C в термостаті протягом 25 хвилин.

Пробірки після експозиції їх при кімнатній температурі протягом 30хв. центрифугують при 1500об./хв. 4хвилини. Облік реакції - мікроскопічний.

Вологі камери витримують при кімнатній температурі 1,5 години, після чого накривають предметні скельця покривними та мікроскопують.

II-ий варіант (за Стегнувою Т.В.).

Техніка реакції.

Волосся промивають теплою водою, ополіскують дистильованою і витримують протягом 15хв. у суміші пергідролу, води і водного розчину аміаку у співвідношенні 2:2:1. Після чого промивають дистильованою водою, висушують і роздавлюють.

До досліджуваних фрагментів волосин довжиною по 0,5см додають ізогемаглютинуючі сироватки анти-А та анти-В в титрі 1:256 і проводять абсорбцію протягом 3-х годин при температурі +4-6°C. Відмивання не абсорбованих антитіл проводиться охолодженим розчином хлориду натрію протягом 15хв. Елюція протікає в 0,5% завись тест-еритроцитів груп Аβ і Вα в термостаті при температурі +50°C протягом 20хв. Після елюції препарати витримують 1годину при кімнатній температурі. Облік реакції – мікроскопічний.

III-ій варіант.

Якщо в таких модифікаціях реакції абсорбції-елюції не вдалося виявити будь-який із антигенів або експерт заздалегідь має інформацію про можливо слабкий антиген у волоссі (попереднє дослідження зразка крові цієї особи), пропонуються методи підвищення чутливості реакції, а саме:

- використання ензимованих тест-еритроцитів груп А і В за допомогою 0,1% розчину трипсину;
- використання альбуміну для приготування зависі тест-еритроцитів груп А і В;
- обробка волосся ензимами;
- попереднє прогрівання волосин (після миття і перед роздушуванням) протягом 30 хвилин при температурі +50°C.

Техніка реакції.

Волосся досліджують в нативному вигляді або після обробки ензимами (0,1% розчином трипсину протягом 30хв. при 37°C).

Альбумін потрібно перевірити на його придатність для використання як білкового середовища (відсутність спонтанної аглютинації ензимованих еритроцитів), для чого по 2краплі 0,5% розчину зависі тест-еритроцитів груп А і В в 1% розчині досліджуваного альбуміну розміщують на предметних скельцях в вологих камерах, витримують протягом 30 хв. в термостаті при температурі 48-50°C і 2-х годин при кімнатній температурі, накривають покривними скельцями і мікроскопують. Відсутність аглютинації свідчить про придатність альбуміну для перевірки на його активність.

Активність альбуміну перевіряють реакцією абсорбції-елюції при дослідженні контрольних зразків висушених на марлі зразків крові груп Аβ і АВ, що містять слабкі антигени.

Оброблений матеріал абсорбують протягом 18 годин при температурі +4-6°C в холодильнику ізогемаглютинуючими сироватками анти-А і анти-В з титром 1:128-1:256. Відмивання неабсорбованих антитіл: 4-х разове охолодженим фізіологічним розчином хлориду натрію. Елюція проходить в пробірках або на предметних скельцях у вологих камерах в фізіологічному розчині хлориду натрію в термостаті при 48-50°C протягом 25 хвилин. Досліджуваний матеріал видаляють, а в елюат вносять по 1 краплі ензимованих тест-еритроцитів у вигляді 0,1% розчину зависі в 0,5%-1% розчині альбуміну при проведенні елюції на площині. Вологі камери залишають при кімнатній температурі на 1-1,5 години, після чого накривають покривними скельцями і мікроскопують.

При елюції в пробірках до елюату додають по 1 краплі відповідних тест-еритроцитів у вигляді 0,5% розчину зависі у розчині альбуміну, пробірки центрифугують 4 хвилини при 1500об/хв., облік реакції – мікроскопічний.

РОЗДІЛ II. Судово-медичне дослідження кісток, м'яких тканин (м'язів) та органів.

Кістки, нігтьові пластинки, зуби, органи і тканини, як об'єкт судово-медичного дослідження підлягають вивченню у випадках експертиз скелетованих трупів, у справах транспортних пригод, якщо на частинах автомобіля виявляють частинки тканин, при масових катастрофах, при забої і викрадені тварин. Це можуть бути як цілі органи, так і частини без виражених анатомо-морфологічних ознак. Приналежність до тої чи іншої тканини визначається у таких випадках візуально, гістологічно та цитологічно. Але подекуди виникають питання про видову природу об'єктів. Якщо вид кісток не встановлений лікарями-судово-медичними експертами-криміналістами, його визначають найбільш чутливим методом – зустрічного електрофорезу, методика аналогічна визначенню виду білка крові. Це ж стосується виду тканин і органів.

1. Виявлення групових антигенів кісток (нігтьових пластинок, зубів).

Виявлення групових антигенів в кістках (нігтьових пластинках, зубах), які не мали ознак гнильних змін, дії високої температури тощо, не становить особливих труднощів, за виключенням того, що при дослідженні кісток немає контрольного матеріалу.

Для цього пропонується наступна методика:

Техніка реакції.

Кістку (або її фрагменти, нігтьову пластинку, зуби) промивають проточною водою, очищують від залишків м'яких тканин, споліскують дистильованою водою, просушують, при необхідності знежирюють в суміші Нікіфорова протягом 20 хвилин. Матеріал подрібнюють в порошок надфілем. Паралельно досліджують зразки кісток із архіву відділення, в яких були виявлені антигени А, В і Н, що було підтверджено дослідженням крові із цих же трупів. Отриманий порошок розмішують на клейкій стрічці (приблизно 0,3-0,5г) для кожної сироватки. Реакцію можна проводити на предметних скельцях і в пробірках. Якщо реакція проходить на скельцях – порошок розмішують в краплю колодію, що підсихає. До підготовлених таким чином препаратів додають по 2-3 краплі ізогемаглютинуючих сироваток анти-А і анти-В в титрі 1:128-1:256. Абсорбція відбувається протягом 18-20 годин при температурі +4-6°C в холодильнику, після чого проводиться 4-5разове відмивання неабсорбованих антитіл охолодженим розчином хлориду натрію. Елюція протікає в 0,3% (для реакції в пробірках) і 0,1% (на предметних скельцях) за висі тест-еритроцитів груп А β і В α в термостаті при температурі +48-50°C протягом 23-25хв. Після елюції препарати на предметних скельцях витримують 1годину при кімнатній температурі. Облік реакції – мікроскопічний. Пробірки піддають центрифугуванню – протягом 4 хвилин при 1500 об/хв. і піддають мікроскопії.

При дослідженні фрагментів кісток різної давності, з гнилісними змінами, після дії високої температури можлива неспецифічна аглютинація тест-еритроцитів. Для боротьби з нею існує декілька способів, що пропонуються для використання у практичній діяльності:

- відмивання в дистильованій воді протягом 48годин;
- промивання в хлороформі;
- фіксація матеріалу 10% сірчаною кислотою;
- фіксація кип'ятінням в дистильованій воді з рН -7,4 протягом 10хв.;
- обробка пергідролем і ацетоном;
- прогрівання в термостаті при 120°С;
- ферментативна обробка;
- центрифугування екстрактів із досліджуваного матеріалу протягом 5 хвилин при 12тис. об/хв. і дослідження надосадової рідини;
- послідовна обробка кип'ятінням і пергідролем.

Для підвищення чутливості реакції рекомендується використовувати:

- зависі тест-еритроцитів на 0,1% розчині папаїну або альбуміну;
- ензимування тест-еритроцитів.

Аналіз вище запропонованих варіантів дозволив виявити найбільш раціональний підхід до реакції абсорбції-елюції виявлення групових антигенів у гнилісно-зміненому матеріалі або матеріалі значної давності. Такий оптимальний варіант реакції пропонується:

Техніка реакції.

Фрагменти кісток відмивають проточною водою, відчищають від залишків м'яких тканин, витримують в дистильованій воді протягом 24 годин, просушують. Кістки подрібнюють до дрібних шматочків, для дослідження беруть наважки, приблизно, по 5-7мг для кожної сироватки. Після чого матеріал фіксують: спочатку витримують 15 хвилин в пергідролі, потім кип'ятять протягом 10хвилин в дистильованій воді з рН 7,4 або можна фіксувати 10% сірчаною кислотою протягом 15 хвилин. Після чого розміщують в пробірки і абсорбують протягом 18годин ізогем-аглютинуючими сироватками анти-А і анти-В з титром 1:128-1:256, для виявлення антигену Н екстракт із плодів бузини трав'янистої або цоліклон анти-Н використовують в титрі не нижче 1:64 (краще 1:128). Відмивання неабсорбованих антитіл – 4-х разове протягом 15 хвилин в лунках імунологічного планшету з переносом матеріалу на фільтрувальний папір після кожного відмивання. Елюція в фізіологічний розчин хлориду натрію при температурі +48-50°С в термостаті, яка відбувається в 2етапи - перша елюція протягом 5хвилин, друга – 25 хвилин. Елюат, отриманий при першій елюції, як правило, містить неспецифічні антитіла, його видаляють, додають нову порцію фізіологічного розчину, другий елюат містить, зазвичай, специфічні імуноглобуліни. Після охолодження пробірок до елюатів додають по 1 краплі ензимованих тест-еритроцитів у вигляді 1% зависі тест-еритроцитів груп Аβ, Вα, 0αβ і піддають центрифугуванню протягом 4

хвилин при 1500 об./хв., (для реагентів анти-Н центрифугування протягом 2 хв. при 1000 об./хв.), облік реакції мікроскопічний. (Можна використовувати тест-еритроцити на альбуміні).

2. Виявлення групових антигенів м'язів та органів.

Якщо для дослідження доставлена м'язова тканина (органи), що не зазнали гнильних змін, рекомендується зробити у м'язі (органі) глибокий розріз, помістити туди лабораторну марлеву серветку, витримати 30 хвилин до просочення серветки кров'ю та вмістом тканин, після чого серветку висушити при кімнатній температурі і в подальшому досліджувати як пляму крові.

В іншому випадку виявлення групових антигенів проводиться дослідженням емульсії або порошку із подрібнених і висушених м'язів і органів.

2.1. Приготування і дослідження емульсії із м'язів (органів) реакцією абсорбції в кількісній модифікації.

М'яз ретельно очищують від жиру, сполучної тканини, промивають проточною і дистильованою водою. Після чого подрібнюють, розтирають в ступці з невеликою кількістю фізіологічного розчину хлориду натрію до утворення однорідної сметаноподібної маси, яку зливають в пробірку і центрифугують. Осад розводять рівним об'ємом фізіологічного розчину. До 0,25мл отриманої 50% емульсії додають по 0,5мл ізогемаглютинуючих сироваток анти-А і анти-В з титром 1:32, для виявлення антигену Н – екстракт лектину з титром 1:12-1:16. Всі інші параметри реакції і облік – як при дослідженні плям крові.

2.2. Приготування і дослідження сухої маси м'язів (органів).

Очищені, промиті і подрібнені шматочки висушують при кімнатній температурі, розтирають в ступці без фізіологічного розчину до отримання порошкоподібної маси. Наважки матеріалу беруть по 50мг, сироватки - по 0,3мл. Хід реакції і її облік згідно вищеописаному.

2.3. Дослідження гниліснозмінених м'язів (органів).

При виявленні групоспецифічних антигенів в об'єктах від гниліснозмінених органів і тканин є певні труднощі у зв'язку з гемолізом еритроцитів або неспецифічною аглютинацією тест-еритроцитів, а також ослабленням специфічної активності під впливом гнилісного розкладення тканин.

Для усунення впливу мікрофлори і продуктів розпаду можна використати попередню обробку об'єктів як 10% формаліном протягом 7 днів, так і киплячим формаліном протягом 3 хвилин, що значно скорочує строки дослідження гниліснозмінених тканин.

Техніка реакції.

Матеріал нарізають шматочками розмірами, приблизно, 3х3мм, розміщують в марлевій мішечки (для кожного органу і тканини окремо), відмивають під проточною водою протягом 20 хвилин. Після відмивання матеріал фіксують одним із наступних способів:

- марлеві мішечки з об'єктами опускають на 3 хв. в киплячий 10% розчин формаліну і витримують протягом 1 години в цьому ж розчині, знятому з нагрівального приладу;
- марлеві мішечки витримують в розчині формаліну при кімнатній температурі протягом 7дб. Об'єм розчину формаліну повинен в 10разів перевищувати об'єм шматочків тканини. Шматочки не повинні злипатися між собою і не прилипати до дна колби, для чого на дно кладуть шар вати.

Після фіксації шматочки ретельно відмивають від формаліну в проточній воді протягом 10годин і висушують при кімнатній температурі на предметних скельцях.

Для реакції використовують ізогемаглютинуючі сироватки анти-А і анти-В в титрі 1:128, екстракт із плодів бузини трав'янистої або цоліклон анти-Н в титрі 1:64. Шматочки тканини розміщують у пробірках з відповідними написами і заливають реагентами з невеликим надлишком. Абсорбція антитіл проходить протягом 4годин при температурі +4-6°С в холодильнику. Неабсорбовані антитіла відмивають 4-хразово охолодженим фізіологічним розчином хлориду натрію. Елюцію проводять в фізіологічний розчин хлориду натрію в термостаті при температурі +48-52°С протягом 23 хвилин. Після охолодження пробірок шматочки видаляють, а до елюату додають по 2краплі 0,5% розчину зависі відповідних тест-еритроцитів і одразу піддають центрифугуванню при 1500об/хв. протягом 4 хв. Облік реакції – мікроскопічний на предметних скельцях під покривними.

Паралельно обов'язково проводять контрольний дослід: до шматочків, інкубованих з сироватками анти-А і анти-В, додають тест-еритроцити групи 0αβ.

3.Виявлення групоспецифічних антигенів системи АВО в фарбованих гістопрепаратах.

Якщо питання групової диференціації тканин в силу ряду причин залишається невирішеним, можливість виявлення антигенів в гістопрепаратах має велике значення, оскільки подекуди із-за відсутності зразків крові, волосся, кісток тощо такі об'єкти можуть бути єдиним джерелом інформації про групову належність трупа після його поховання.

Спосіб і термін фіксації матеріалу, спосіб отримання зрізів, фарбування (крім тих способів фарбування, куди входять сильні окислювачі – йодна кислота, перманганат калію), давність виготовлення препаратів (в межах 1,5 років) негативного впливу на виявлення групоспецифічних антигенів А,В і Н не мають.

Потрібно знати, що найкраще антигени виявляються в гістопрепаратах нирок, селезінки, стінки шлунка, скелетних м'язів, легенів; дещо гірше – в препаратах серцевого м'яза, матки, печінки, а погано, або зовсім не виявляються в препаратах мозку.

Для виявлення антигенів А, В і Н достатньо мати один гістологічний зріз розмірами 0,5х0,5см, товщиною 20 мікрметрів. При меншій площі зрізу потрібно від 2-х до 5-ти препаратів.

Техніка реакції.

Для звільнення від предметних і покривних скелець і середовища, куди був поміщений препарат, скла розміщують в чашках Петрі, заповнених ефіром або ксилолом, якщо середовище – полістирол (до повного розчинення), на час від 10хв. до 1 години. Після чого звільнені зрізи розтирають в ступці до однорідної суміші, яку зливають в центрифужну пробірку і тричі відмивають 96° етиловим спиртом за допомогою центрифугування протягом 10хв. при 3000об./хв. Із отриманої суміші готують мазки на предметних скельцях шляхом накопичення (по 2 мазки на ізосироватки і один для сироватки анти-Н) діаметром, приблизно, 0,5-0,7см. Після чого мазки фіксують метиловим спиртом протягом 10хв. Надалі на мазках проводять реакцію абсорбції-елюції, для чого використовують ізосироватки анти-А і анти-В з титром не нижче 1:128. Для виявлення антигену Н використовують екстракт із плодів бузини трав'янистої або імунну сироватку. Абсорбція проходить при температурі +4-8°С в холодильнику протягом 18-20годин. Відмивання нез'язаних антитіл проводять охолодженим розчином фізіологічного розчину хлориду натрію п'ятиразово, при цьому розчин хлориду натрію наносять на мазки, витримують 10хвилин, змивають і наносять нову порцію розчину. Після чого мазки висушують при кімнатній температурі і наносять на них відповідно по 2краплі 0,5% розчину зависі тест-еритроцитів груп Аβ, Вα і 0αβ. Препарати накривають покривними скельцями, розміщують у вологі камери. Через 30 хвилин проводять перший облік результатів реакції і так періодично до початку явищ підсихання препаратів.

Примітка: виявлення групових антигенів в гістопрепаратах також проводиться у відділенні судово-медичної цитології на клітинах, виділених із препаратів, реакцією змішаної аглютинації.

РОЗДІЛ III. Основи формування підсумків у «Висновку експерта» при експертизах волосся.

Формування підсумків в експертизах волосся такі ж, як і в експертизах слідів крові. (Див. методичні рекомендації «Дослідження рідкої крові та її слідів на речових доказах» Київ, 2010р.). Але є деякі особливості.

В підсумках за результатами дослідження волосся дані викладаються в такій послідовності:

- вказується чи є досліджувані об'єкти волоссям, чи належать вони людині і з якої частини тіла походять;
- механізм відокремлення волосся;
- дані про пошкодження волосся, якщо вони є, від механічної дії, термічної, хімічної тощо;
- дані про наявність освітлення або фарбування волосся, завивки;
- дані про ознаки захворювання волосся тощо;
- дані серологічного дослідження волосся в такій послідовності: зразків волосся потерпілого, зразків волосся підозрюваного, волосся, вилученого з місця події, зазначивши №№ об'єктів, які піддавалися дослідженню. Якщо досліджувалися і зразки крові – спочатку надаються дані про групу крові, потім – про виявлені антигени у волоссі;
- підсумок відносно порівняльного дослідження волосся, зазначивши чи може воно походити від особи, зразки волосся якої піддавалися порівнянню. Якщо експерт не має можливості надати відповідь на всі питання, що поставлені слідчим, потрібно обґрунтувати чому.

Приклади підсумків:

1. Фабула: було вчинене розбійне пограбування гр. Н. На місці події знайдена кепка, на підкладці якої виявлено 4 об'єкти, подібні на волосини. За показами свідків в коло підозрюваних попав гр. Т, у якого були відібрані зразки волосся з голови для порівняння. Слідчим був наданий дозвіл на встановлення групової належності волосся, вилученого з місця події, якщо воно виявиться подібним зі зразками волосся з голови гр. Т.

Підсумки.

1. Об'єкти, що вилучені із кепки, знайденої на місці події, є волоссям людини і походять з голови (об.№№1-4).

Кореневі кінці цих волосин свідчать, що вони є відживаючими, які могли випасти самі, або були відокремлені механічною дією незначної сили.

Ознак дії хімічних речовин, косметичних засобів на ці об'єкти не виявлено.

В об.№1 є пошкодження стовбура волосини, яке могло бути спричинено дією тупого твердого предмету.

2. Кров гр. Т. відноситься до групи А з ізогемаглютиніном анти-В.

При серологічному дослідженні зразків волосся з голови гр. Т.(об.№7,10,15) виявлений антиген А.

3. При серологічному дослідженні волосин, вилучених з кепки (об.№2,4) виявлений антиген А.

4. Порівняльне дослідження волосин, вилучених із кепки, зі зразками волосся з голови гр. Т. свідчить про його схожість між собою за основними морфологічними та фізичними ознаками.

Крім того, виявлене пошкодження в об.№1 стовбура волосини аналогічне пошкодженню деяких стовбурів волосин -зразків з голови гр. Т.

Таким чином, волосини, що вилучені з кепки, знайденої на місці події, можуть походити з голови гр. Т. Серологічне дослідження підтверджує такий висновок.

Примітка: дані про ознаки дії хімічних речовин, косметичних засобів вказуються лише тільки, коли таке питання стояло у постанові слідчого, а якщо такого питання немає і ознак не виявлено, зазначати це непотрібно.

2.Фабула: був скоєний наїзд на гр. Ф., від отриманих тілесних ушкоджень гр. Ф. померла. При огляді автомобіля гр. П. на колесі виявлені об'єкти схожі на волосся.

Підсумки.

1.Об'єкти, що вилучені з колеса автомобіля (об.№№1-11) є волоссям і походять з голови людини.

Характер корневих кінців волосся свідчать про його відокремлення від голови дією твердого тупого предмета з великою силою.

Волосся на протязі 2/3 довжини від периферичного кінця має ознаки знебарвлення.

2.Кров із трупа гр. Ф. відноситься до групи 0 з ізогемаглютинінами анти-А і анти-В.

При серологічному дослідженні зразків волосся з голови трупа гр. Ф. (об.№12,16,20) виявлений антиген Н.

3.При серологічному дослідженні волосся, вилученого з колеса автомобіля (об.№2,5,7) виявлений антиген Н.

4.При порівняльному дослідженні корневих і прилеглих до них частин волосин (що не мають ознак знебарвлення), вилучених з колеса автомобіля з аналогічними частинами волосин - зразків з голови трупа гр. Ф. (у зразках теж 2/3 волосин по довжині від периферичного кінця мають ознаки знебарвлення) подібність більшості морфологічних та фізичних ознак свідчить про схожість вказаного волосся між собою і, отже, волосся, вилучене з колеса автомобіля, може походити з голови трупа гр. Ф. Серологічне дослідження підтверджує цей висновок.

3.Фабула. У водоймі був виявлений труп гр. К. При огляді трупа в її руках були виявлені об'єкти, подібні на волосся. У скоєні злочину підозрюється гр.

П. У судовому засіданні було заявлене клопотання провести судово-медичну експертизу волосся, знайденого в руці трупа потерпілої. У зв'язку з чим була проведена ексгумація трупа гр. К. і були вилучені зразки волосся з лобка трупа гр. К. (через три роки після захоронення). Також доставлені зразки волосся з лобка гр.П.

Підсумки.

1.Об'єкти, вилучені з рук трупа гр. К.(об.№1-3) є довгим волоссям тулуба людини і походять з лобка.

2.Волосся, вилучене з рук трупа гр. К., і зразки волосся з лобка ексгумованого трупа гр. К. при порівняльному дослідженні подібні між собою за рядом морфологічних і фізичних властивостей і це волосся може походити від трупа гр. К., незважаючи на деякі відмінні морфологічні ознаки, які, можливо, утворилися в зразках волосся із-за дії сукупних факторів, яким піддавалося волосся (температура, волога, продукти гнилісних змін тканин), такі дані наведені в літературі.

3.Волосся, вилучене з рук трупа гр.К., за більшістю морфологічних і фізичних ознак неподібно зі зразками волосся з лобка підозрюваного П. і не походить від підозрюваного.

4.Фабула: був виявлений труп гр. З. з ознаками переїзду його транспортним засобом. В скоєні наїзду підозрюється водій мотоциклу гр. С. При огляді мотоциклу на днищі двигуна були виявлені об'єкти подібні на волосся.

Підсумки.

1.Серед об'єктів, що вилучені з мотоцикла: 4 об'єкти (об.№3,8,9,10) є волоссям людини і походить з голови; об.№1,2 є волоссям тварини; об.№5,6,7 мають рослинне походження; об.№4 є волокном текстильного походження.

Серед волосин людського походження: об.№3,8 – є пігментованими фрагментами волосин, об.№9,10 – сиві волосини.

Характер кореневих кінців об.№№3,8,9,10 свідчить про те, що одна волосина відокремлена дією тупого твердого предмету (об.№3); одна – дією гострого ріжучого предмету (об.№8), одна волосина обірвана швидким рухом (об.№9) і одна – є нежиттєздатною і могла випасти сама (об.№10).

На двох волосинах (об.№№3,10) є пошкодження, що утворилися від дії тупого твердого предмету. Ознак дії високої температури не виявлено.

2.При порівняльному дослідженні об. №№3,8 за морфологічними ознаками схожі з деякими фрагментами зразків волосся з голови трупа потерпілого гр.З., але в зв'язку з тим, що з мотоцикла вилучені тільки поодинокі (дві) пігментовані волосини, до того ж, які є фрагментами, а не цілими волосинами, а також враховуючи той факт, що волосся однієї людини може бути між собою несхожим, а волосся різних людей мати ознаки подібності,

висловитися категорично, чи могли ці волосини походити саме від гр. З. не є можливим.

Об. №9,10, що є сивими волосинами, порівняльному дослідженню не підлягають, у зв'язку з чим висловитися про їх походження від конкретної людини також неможливо. Можна лише відмітити, що серед волосся-зразків з голови трупа гр. З. є сиве волосся.

В И С Н О В К И

Проведення судово-медичної експертизи волосся щодо встановлення його належності конкретній особі за цілим рядом кримінальних справ дуже часто стає єдиною можливою експертизою для вирішення питань, що цікавить слідство, оскільки відсутність у корневих кінцях волосин цибулин з вагінальними оболонками робить неможливим встановлення статевої належності і ДНК-дослідження. Визначення групових антигенів в кістках скелетованих трупів, в м'язах або органах розчленованих трупів, особливо при масових катастрофах, є попереднім диференціальним дослідженням перед проведенням ДНК-дослідження, а подекуди і єдиною можливістю. Запропоновані методичні рекомендації «Судово-медичне дослідження волосся, кісток, м'яких тканин та органів» дозволять судовим експертам зробити правильний вибір методики для отримання позитивного результату і тим самим скоротити терміни проведення та покращити якість виконаних експертиз,

Література.

1. А.К.Туманов «Основы судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств», Москва, «Медицина», 1975г.,84 стр.
2. Л.О.Барсегянц «Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств», Москва, «Медицина»,2005г.,157стр.
3. Р.Г.Геньбом, Н.П.Корнеева-Асадчих «Судебно-медицинское исследование вещественных доказательств», Москва, «Медицина»,1972г.,18стр.
4. А.П.Загрядская, Методические рекомендации «Применение люминесцентной микроскопии при судебно-медицинском исследовании крови, спермы, клеток влагалищного эпителия, волос», Горький, МЗ РСФСР, Горьковский мединститут им.С.М.Кирова,1982., 16стр.
5. О.О.Барсегянц, М.Ф.Верещака «Морфологические особенности волос человека в аспекте судебно-медицинской экспертизы», Москва, 1982г.,212стор.
6. Сборник нормативных документов «Организация и производство медицинских судебных экспертиз», Минск, 2004г.,5стор.
7. Сборник «Современные научные и практические разработки судебных медиков Мордовии», Саранск,1999г.8стор.
8. С.В.Гуртовая, Э.Н.Рябцева «Некоторые вопросы методики и тактики проведения экспертизы волос человека», Стаття в журналі «Судебно-медицинская экспертиза», Москва, 1994г, 4стор.
9. С.В.Гуртовая, Л.Н.Тучик, О.Б.Куджиева «Об определении групповой принадлежности фрагментов костей», Стаття в журналі «Судебно-медицинская экспертиза», Москва, 2006г, 2стор.
10. И.О.Перепечина, Г.С.Юдина «Выявление слабовыраженных антигенов системы АВО в следах крови, костной ткани и волосах человека», Москва, 2007г.,8стор.
11. Інформаційний лист «Выявление антигенов системы АВО в ногтях»,МОЗ України, Республіканський центр наукової медичної інформації,1982р., 2стор.
12. Методичний лист «Определение группоспецифических антигенов системы АВО в гнилостноизменных органах и тканях реакцией абсорбции-элюции», 1987г, Москва.4стор.