

ЕКСПЕРТУ-ПРАКТИКУ

МЕТОДИКА ПРИГОТУВАННЯ ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗІ СЛІДІВ КРОВІ З ВИКОРИСТАННЯМ УЛЬТРАЗВУКОВОЇ БАНІ

I.M. Дручініна, P.O. Старовойтова

ДУ Головне бюро судово-медичної експертизи МОЗ України

З практики роботи відділень судово-медичної цитології відомо, що сліди крові на джинсовій тканині є найбільш несприятливими об'єктами при проведенні судово-цитологічних досліджень. Дуже часто кількість клітинних елементів, вилучених з таких об'єктів, буває замалою для визначення статевої належності крові.

Метою даної роботи була розробка методики, яка б дозволяла провести максимальне вилучення клітинних елементів з плям крові на джинсовій тканині. При проведенні роботи нами була досліджена 51 пляма крові на різних видах джинсових тканин, отриманих від жінок і чоловіків віком від 17 до 65 років. Плями крові зберігались в умовах лабораторії у різні терміни - 2 тижні, 1 місяць і більше 2-х місяців.

Матеріалом дослідження були плями крові; для їх дослідження використовувалась ультразвукова водяна баня «Elmasonic S», виробництва Німеччини.

Приготування цитологічних препаратів проводили загальноприйнятим методом та з використанням ультразвукової бані. Кожну пляму крові ділили на дві рівні частини. Одну частину плями поміщали в центрифужну пробірку і заливали 7-9 мл 10% розчину оцтової кислоти і залишали на 18-24 години при кімнатній температурі. Потім предметносій (фрагмент джинсової тканини) вилучали і вміст пробірки центрифугували 5 хв. при 1500 об/хв., осад відмивали 10% розчином оцтової кислоти три рази. З осаду готували цитологічні препарати.

Другу частину джинсової тканини з плямою крові також поміщали в центрифужну пробірку, заливали 3-ма мл фізіологічного розчину і поміщали в ультразвукову водяну баню на 15 хв. Потім предметносій вилучали, вміст пробірки центрифугували 5 хв. при 1500 об/хв. Відмивання осаду проводили 10% розчином оцтової кислоти три рази. З осаду готували цитологічні препарати.

З метою перевірки наявності клітинних елементів у матеріалі, який досліджували загальноприйнятим методом, був використаний фрагмент джинсової тканини з кров'ю, який перенесли в чисту пробірку, заливали 3-ма мл 10% розчину оцтової кислоти і поміщали в ультразвукову водяну баню на 15 хв. Потім його вилучали, вміст пробірки центрифугували 5 хв. при 1500 об/хв. Відмивання осаду проводили 10% розчином оцтової кислоти три рази. З осаду готували цитологічні препарати по стандартній схемі. Висушені препарати очищали від видимих сторонніх домішок за допомогою пензлика. Частину препаратів фіксували метанолом на протязі 10хв і забарвлювали азур-еозиною

сумішню згідно з методичними рекомендаціями «Визначення регіонального походження клітин при судово-медичній експертизі підозрюваних у статевих злочинах», Київ, 2006. Мікроскопію і підрахунок клітинних елементів крові проводили на світловому мікроскопі «Olympus CX41», окуляри 10х, об'єктивів 20^x.

З метою перевірки наявності світіння У-хроматину в ядрах лейкоцитів, які були підлеглі впливу ультразвуку, другу частину препаратів фіксували сумішню рівної кількості ацетону і етанолу і забарвлювали 2 хв. водним розчином квінакриндегідрохлориду. Препарати заключали під покривні скельця в суміш (1:1) гліцерину і фосфатного буферу рН=6,0. Мікроскопію і підрахунок клітинних елементів крові, а також підрахунок лейкоцитів з У-хроматином проводили в падаючих променях люмінесценції за допомогою мікроскопу «Olympus BX41», окуляри 10^x, об'єктивів 100^x, масляна імерсія.

При мікроскопічному дослідженні препаратів нами були виявлені в достатній кількості ядра лейкоцитів, в яких спостерігалось яскраве світіння У-хроматину.

Таким чином, дослідженню піддавалися 3 групи препаратів:

- препарати, клітинні елементи яких вилучались стандартним методом (загальноприйнятий спосіб);
- препарати, клітинні елементи яких вилучались за допомогою ультразвукової бані «Elmasonic S» (УЗ);
- препарати, клітинні елементи яких додатково вилучались за допомогою ультразвукової бані «Elmasonic S» після проведення стандартної методики вилучення клітин (УЗ-І).

Отримані результати дослідження представлені у наведеній нижче таблиці 1.

Отже, ми прийшли до висновку, що використання ультразвукової бані при судово-медичній експертизі слідів крові збільшує кількість вилучених клітин в середньому в 6-7 разів в порівнянні із загальноприйнятим методом приготування цитологічних препаратів.

З метою підвищення якості визначення статевої належності крові в слідах на речових доказах нами пропонується наступна методика приготування цитологічних препаратів.

Вірізку тканини з плямою крові (змив зі слідів крові) поміщаємо в центрифужну пробірку, заливаємо 3-4 мл 10% розчину оцтової кислоти і залишаємо на 18-24 години при кімнатній

температурі. На другу добу пробірку поміщаємо в ультразвукову водяну баню на 15 хв. Потім предметною вилучаємо і проводимо відмивання осаду 10% розчином оцтової кислоти три рази. З осаду готуємо цитологічні препарати. Подальшу фіксацію та фарбування препаратів проводимо по стандартній схемі. Вищенаведена методика була апробована нами при проведенні ряду експертиз. Матеріал, який піддавався дії ультразвуку, ми використовували в реакції абсорбції-елюції і впливу дії ультразвуку на виявлення антигенів системи АВ0 нами не встановлено.

ВИСНОВКИ:

1. Запропонована нами методика приготування цитологічних препаратів за допомогою використання ультразвуку дозволяє значно збільшити кількість клітинних елементів, вилучених з плям крові (в 6-7 разів у порівнянні із загальноприйнятим методом).

2. В результаті проведеного дослідження встановлено, що обробка слідів крові ультразвуком не впливає на виявлення У-хроматину в ядрах лейкоцитів.

3. Використання даного методу в експертизах показало, що обробка матеріалу ультразвуком не впливає на подальше дослідження слідів крові з метою виявлення антигенів системи АВ0.

4. На кількість вилучення клітинних елементів з плям крові впливають строки їх зберігання в умовах лабораторії. Найбільше клітинних елементів було отримано в плямах крові з терміном збереження до 1 місяця.

5. Застосування методу приготування

цитологічних препаратів за допомогою ультразвуку дає можливість використовувати в експертизах значно меншу кількість матеріалу.

Література

1. **Науменко В.Г.** Гистологический и цитологический методы исследования в судебной медицине // В.Г. Науменко, Н.А. Митяева. – М.: Медицина, 1980. – 303с.
2. **Загрядская А.П.** Судебно-медицинское исследование изолированных клеток и микрочастиц тканей животного происхождения // А.П. Загрядская, А.Л. Федоровцев, Е.И. Корольова– М.: Медицина, 1984. – 104 с.
3. **Судово-цитологічні** дослідження мікронакладень на знаряддях травми та в піднігтьовому вмісті// Старовойтова Р.О., Дручініна І.М. Інформаційний лист. - Київ, 2004.-13с
4. **Визначення регіонального** походження клітин при судово-медичній експертизі підозрюваних у статевих злочинах //Бурчинський В.Г., Старовойтова Р.О., Хохолева Т.В., Ліщенко О.П. Методичні рекомендації. – Київ, 2006. – 23 с.
5. **Визначення регіональної** та органо-тканинної належності клітин при судово-медичній експертизі знарядь травми //Старовойтова Р.О., Дручініна І.М., Бурчинський В.Г., Хохолева Т.В. Методичні рекомендації. – Київ, 2008. – 31 с.
6. **Старовойтова Р.О.** Нова методика приготування цитологічних препаратів з недопалків сигарет з використанням ультразвукової бані //Дручініна І.М. - Український судово-медичний вісник № 23 (1). - Київ, 2009.-с.42.

Таблиця 1

Порівняльні дані кількості вилучених ядер лейкоцитів зі слідів крові на джинсовій тканині з використанням різних методів приготування цитологічних препаратів

Терміни зберігання об'єктів	2 тижні			1 місяць			більше 2 місяців		
	№ об'єкту	Звичайний спосіб	УЗ	УЗ-1	Звичайний спосіб	УЗ	УЗ-1	Звичайний спосіб	УЗ
1	9	65	145	11	13	11	5	2	13
2	10	118	160	12	90	180	2	6	11
3	13	25	44	10	49	171	0	23	34
4	7	10	63	21	42	55	7	27	33
5	12	13	83	8	17	30	5	9	15
6	27	38	140	9	16	30	8	33	55
7	16	9	79	6	26	27	7	23	29
8	5	23	114	3	25	12	2	17	34
9	6	13	23	7	8	12	9	29	41
10	15	7	180	10	42	89	5	29	36
11	3	5	13	8	8	17	9	23	44
12	6	11	250	24	3	154			
13	5	3	12	5	8	17			
14	3	18	23	9	135	84			
15	16	28	38	6	71	164			
16	7	54	113	11	17	11			
17	11	20	42	12	41	7			
18	11	9	15	1	37	12			
19	27	53	113	3	68	120			
20	13	25	44	8	25	18			
Середнє арифметичне	11	27	85	9	37	61	5	20	31