УДК 343.983.7

А.Д. Соколова, *головний експерт*
Науково-дослідного експертно-криміналістичного
центру при ГУМВС України в Дніпропетровській області
І.Є. Соколова, *кандидат біологічних наук*
доцент кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології
Дніпропетровського національного інституту імені О. Гончара

ВПЛИВ САПРОФІТНОЇ МІКРОФЛОРИ НА ПЕРЕБІГ І РЕЗУЛЬТАТИ СУДОВО-БІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ОБ'ЄКТІВ, ЩО МІСТЯТЬ КРОВ

Проведено ідентифікацію мікроорганізмів, що контамінують зразки крові — об'єкти біолого-криміналістичної експертизи. Досліджено їх вплив на результати судово-імунологічних реакцій, зокрема визначення еритроцитарних антигенів крові за системою АВ0 та відповідних ізогемаглютинінів. Доведено, що зараження зразків крові мікроорганізмами може призводити до хибнопозитивних чи хибнонегативних результатів і неправильних висновків.

Ключові слова: судово-імунологічна експертиза, мікроорганізми, еритроцитарні антигени, система АВ0, ізогемаглютиніни, реакція абсорбції-елюції, метод покривного скла по Ляттесу.

Проведена идентификация микроорганизмов, которые контаминируют образцы крови — объекты биолого-криминалистической экспертизы. Исследовано их влияние на результаты судебно-иммунологических реакций, в частности определение эритроцитарных антигенов крови по системе АВ0 и соответствующих изогемагглютининов. Доказано, что заражение образцов крови микроорганизмами может приводить к ложноположительным и ложноотрицательным результатам и неверным выводам.

Identification of microorganisms which contaminate of blood examples as object of biocriminal expertise was conducted. Their influence on results of forensic-immunological reactions, in particular determination of blood antigens of system AB0 and corresponding isohemagglutinins. It was shown that microbe contamination of blood examples can lead to false positive and false negative results and mistaken conclusion.

У криміналістичній практиці доволі часто як речові докази використовують сліди біологічного походження (кров, слину, сперму, волосся, частини тканин тощо). Встановлення походження цих слідів від конкретної особи має велике значення для розслідування та розкриття особливо тяжких злочинів.

Одними з найпоширеніших зразків, які надають на дослідження судово-імунологічної експертизи (далі — СІЕ), є сліди крові на предметі-носії. Основним завданням такої СІЕ слідів крові є встановлення наявності крові на об'єктах дослідження, а також її видової та групової належності.

© *А.Д. Соколова, І.Є. Соколова, 2014*

Важливе значення для СІЕ слідів крові має правильне вилучення та зберігання об'єктів дослідження, які містять кров, що під час огляду місця події не завжди вдається зробити. Зокрема, не завжди є можливість забезпечити повне висихання вилученого об'єкта, обмежити потрапляння до вилучених об'єктів мікроорганізмів з навколишнього середовища, проконтролювати спосіб збереження об'єктів до моменту надходження до установи, якій доручено проведення експертизи. Брак таких можливостей може призвести до псування об'єктів дослідження біологічного походження, найчастіше до їх гниття.

Гниття (амоніфікація) — процес розщеплення складних азотовмісних органічних сполук (переважно білків) під дією гнилісних мікроорганізмів на менш складні. Тобто це процес, який повністю залежить від взаємодії поживного середовища з гетеротрофними мікроорганізмами, що є сапрофітами, які використовують для свого харчування органічні речовини [1].

Основними мікробіологічними чинниками, що можуть псувати кров як об'єкт дослідження, є мікробні ферменти, токсини та антигени.

Потрапляючи у зразок крові, вилучений як об'єкт дослідження, мікроорганізми сприймають органічні сполуки крові як поживне середовище: субстрат, насичений вуглеводами, білками та ліпідами. За сприятливих умов мікроби активно розмножуються, поглинаючи субстрат та виділяючи продукти свого обміну, чим змінюють біохімічний склад досліджуваного об'єкта. Зміна складу сполук призводить до того, що вони перестають бути придатними для реакції антиген-антитіло, на якій базуються серологічні дослідження.

Отже, складність проведення експертизи зростає за наявності у матеріалі гнилісних змін. Серологічна активність мікроорганізмів спотворює справжній фенотип індивідууму, зумовлює в певних випадках наочну розбіжність антигенних характеристик крові і виділень тієї самої особи. Слід пам'ятати і про можливий вплив антигенної активності мікрофлори на імунологічні реакції. Навіть при значній забрудненості плями мікрофлорою контрольні ділянки предмета-носія можуть не впливати на застосовані серологічні реагенти. Це зумовлено тим, що за відсутності білкового субстрату розмноження мікроорганізмів відбувається менш інтенсивно і їх серологічна активність може не проявлятися. Схожість антигенних детермінант групових ізоантигенів та антигенів мікроорганізмів забезпечує взаємодію останніх з реагентами, що мають високу специфічність, навіть з моноклональними антитілами. Зважаючи на це, проблему дослідження бактеріально забрудненого матеріалу не можна вирішити лише за рахунок застосування високоякісних діагностичних компонентів [2].

Рекомендовані методики не завжди можуть «очистити» контаміновані мікробами зразки тією мірою, якої потребує дослідження, і неможливо позбавити зразок наслідків їх дії (ушкодження компонентів клітин, внесення продуктів обміну). Деякі автори [2, с. 2] пропонують використовувати реакції змішаної аглютинації (далі — РЗА), центрифугування, температурну і ферментну обробку контамінованого зразка як спосіб вирішення проблеми зараження. Однак РЗА потребує великої кількості матеріалу, що не завжди є можливим, особливо у випадку зараження мікросліду. Запропоновані для очищення методики температурної і ферментативної обробки можуть призвести до ушкодження досліджуваного зразка, причому більшою мірою ніж мікрофлори, зважаючи на те, що кров містить термолабільні

водорозчинні компоненти, а клітини деяких мікроорганізмів зазвичай є стійкими до таких впливів. Нерідко експертам доводиться відмовлятися від об'єкта дослідження з ознаками гниття. Водночас, якщо це єдиний об'єкт дослідження у справі, втрата його може призвести до певних негативних наслідків, а отже, потребує дослідження можливий перебіг експертизи такого зразка і розрахунок можливих похибок такої експертизи.

Безперечно, класична система групи крові АВ0 має першочергове значення для судово-медичного диференціювання слідів крові, що пов'язано з високим поліморфізмом цієї системи, винятковою стійкістю її антигенів до зовнішніх впливів середовища. На цей час систему АВ0 прийнято називати системою АВ0 (Н) у зв'язку з наявністю супутнього антигену Н в еритроцитах більшості людей з різними групами крові. У межах цієї системи існує чотири основні групи крові: 0 (I), А (II), В (III) і АВ (IV) [3, с. 276].

Як відомо, антигени крові системи АВ0 (Н): А, В і Н (0) представлені глікопротеїдами, розташованими на поверхневих оболонках еритроцитів. Білки є основою системи, а термінальні моносахариди — антигенними детермінантами. На кінці вуглеводного компонента антигену Н (I) розташована фукоза, антигену А (II) — фукоза та N-ацетилгалактозамін, антигену В (III) — фукоза і залишок D-галактози. Саме кінцеві N-ацетилгалактозамін і D-галактоза визначають специфічність антигенів II і III груп крові, а їх комбінація — IV групи крові [4].

Визначення груп крові системи АВ0 (Н) засновано не тільки на виявленні відповідних антигенів еритроцитів, але й на визначенні аглютинінів сироватки. Для судово-медичної діагностики групи крові у досліджуваній плямі вирішальним є виявлення того чи іншого антигену. Це зумовлено тим, що аглютиніни α і β у крові різних осіб мають різну силу виразності, більш чутливі до впливу природного середовища і зберігаються у плямі крові від кількох днів до кількох місяців [3, с. 277].

Н.М. Дяченко та співавтори [5, с. 44] також наголошують на високій чутливості ізогемаглютинінів сироватки до дії зовнішніх чинників. Їх не завжди можна виявити під час дослідження у зв'язку зі знищенням при підвищенні температури зберігання або у разі гниття об'єкта дослідження, а також у зв'язку зі швидким ослабленням їх титру чи поганим розчиненням старих плям крові.

Антигени А, В, Н за відсутності гниття або дії будь-яких сильних руйнівних чинників зберігаються у плямі крові досить довго (упродовж кількох років). Для судово-медичного дослідження плям крові мають діагностичну цінність як групові антигени системи АВ0 (Н), так і аглютиніни α і β [3, с. 277].

З метою оцінки впливу мікробів на перебіг і результати СІЕ доцільно детальніше зупинитися на механізмі цього впливу та досліджуваних компонентах, що і є метою цієї статті.

Матеріали та методи досліджень

Проби для досліджень відбирають шляхом змиву плям крові на марлеві тампони з дотриманням основних правил вилучення зразків крові [6]. З метою забезпечення відповідних умов експерименту було отримано 3 експериментальних зразки, які упакували трохи вологими. Виділення мікроорганізмів, які потрапили до цих зразків, проведено шляхом екстрагування отриманих змивів і контрольних змивів до них. Отримані екстракти (у співвідношенні 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000) і два

контрольних змиви розвели у 0,9-процентному розчині хлористого натрію — NaCl та висіяли на поживне середовище ГМФ-агар (по 0,05 мл з кожного розведення, контрольні зразки по — 0,1 мл). З кожного розведення посів робили тричі, а з розведень «К марлі», «К змиву» — по одному. Було отримано 38 чашок Петрі з посівами, які помістили до термостата за температури Т = 29 °С на 48 год.

Фарбовані мазки готували з колоній, отриманих з розведень, за методом Грама [7, с. 57]. Обрані колонії пронумерували від 1 до 10, з них отримали мазки за номерами 1—10. Вирощені культури з окремих колоній висівали на скошений агар і поміщали до термостата за зазначених вище умов. Отримані культури висівали на набір середовищ Гісса (що містять глюкозу, сахарозу, маніт, фруктозу та індикатор бромтимоловий синій), на м'ясо-пептонний бульйон, жовтково-сольовий агар, середовище Лєвіна та поміщали до термостата (Т = 29 °С на 48 год) [8]. Ідентифікацію проводили шляхом мікроскопіювання мазків, а також за морфологічними і культурально-фізіологічними ознаками колоній мікроорганізмів [9].

Для виявлення здатності мікроорганізмів впливати на кров (псувати) використовували методику визначення гемолітичної активності [7, с. 80]. Посів робили тричі для кожного з мікроорганізмів.

З метою виявлення ізоаглютиногенів мікробозаражених зразків крові використовували методику РАЕ. Для цього застосовували моноклональні антитіла (еритротест-цоліклон СМ анти-А серії 232, анти-В серії 233 у титрах 1:128). Вирізки з марлі з кров'ю, контрольних ділянок предметів-носіїв і контрольних зразків крові груп А (II) і В (III) фіксували етанолом упродовж 20 хв. До препаратів додавали антитіла і проводили абсорбцію упродовж 20 год за температури Т = 4 °С. Після закінчення абсорбції відмивали незв'язані антитіла охолодженим фізіологічним розчином — п'ятикратно по 2 хв. Елюцію абсорбованих антитіл проводили в 0,3-процентній суспензії стандартних еритроцитів груп А і В за температури Т = 50 °С у пробірках. Після елюції препарати витримували 1 год за кімнатної температури та досліджували мікроскопічно. За наявності аглютинації цих чи інших стандартних еритроцитів визначали наявність у плямі крові певних ізогемаглютиногенів [5, с. 10, 49].

Для виявлення ізоаглютинінів у зразках мікробозараженої крові використовували метод покривного скла за Ляттесом. Вирізки зі зразків крові на марлі поміщали на предметні скельця, накривали покривними скельцями та додавали під них 0,1-процентну суспензію стандартних еритроцитів груп А, В та 0. Препарати поміщали у вологі камери і періодично проводили мікроскопію упродовж 24 год. Наявність аглютинації цих чи інших стандартних еритроцитів свідчить про наявність у плямі крові певних ізогемаглютинінів [10].

Результати досліджень

За результатами візуального огляду культивованих колоній, мікроскопіювання та аналізу біохімічних показників було ідентифіковано обрані колонії № 1—10 (див. табл. 1).

Таблиця 1

Ідентифікаційні ознаки виділених мікроорганізмів

№ з/п	Назва мікро-організму	Опис колонії	Опис мікроорганізмів у мазку, виявлені біохімічні властивості
1	**2**	**3**	**4**
1	B. subtilis	d = 10 мм (велика), округла, край фестончатий, непрозора, випукла, зморшкувата (складчаста від центру до периферії), матова, R-форма, зволожена, молочно-білого кольору, пастоподібна	Гр+ видовжені палички різного розміру, збродживають глюкозу з виділенням кислоти, викликають помутніння МПБ
2	B. subtilis	d = 17 мм (велика), амебоподібна, край різоїдний, непрозора, плоска, стелиться по поверхні середовища, матова, R-форма, зволожена, у центрі рівна, зморшкувата по краю (у вигляді складок і «кратерів»), бежево-білого кольору, пастоподібна	Гр+ видовжені палички різного розміру, збродживають глюкозу і сахарозу з виділенням кислоти, утворюють павутинну плівку на МПБ
3	B. subtilis	d = 9 мм (велика), правильно округла, край хвилястий, непрозора, опукла, кратерного типу, матова, R-форма, зволожена, молочно-білого кольору, пастоподібна	Гр+ видовжені палички різного розміру, збродживають глюкозу з виділенням кислоти, викликають помутніння МПБ
4	Staphylococcus spp.	10 мм х 5 мм (велика), амебоїдна, непрозора, плоска, стелиться по поверхні середовища, зволожена, глянцева, S-форма, жовтого кольору, слизова	Гр+ коки, скупчення, у вигляді грона винограду; в аеробних умовах збродживають глюкозу з виділенням оцтової кислоти та CO_2, на жовточно-сольовому агарі утворюють помаранчеві колонії
5	Staphylococcus spp.	d = 1 мм (дрібна), правильно кругла, край рівний, непрозора, куполоподібна, глянцева, S-форма, рожевого кольору, в'язка	Гр+ коки, скупчення, у вигляді грона винограду; в аеробних умовах збродживають глюкозу з виділенням оцтової кислоти та CO_2, на жовточно-сольовому агарі утворюють помаранчеві колонії
6	Staphylococcus spp.	d = 3 мм (середня), правильно кругла, край рівний, непрозора, з піднятою у вигляді соска серединою, глянцева, S-форма, жовто-помаранчевого кольору, слизова	Гр+ коки, скупчення, у вигляді грона винограду; в аеробних умовах збродживають глюкозу з виділенням оцтової кислоти та CO_2, на жовточно-сольовому агарі утворюють помаранчеві колонії

№ з/п	Назва мікро-організму	Опис колонії	Опис мікроорганізмів у мазку, виявлені біохімічні властивості
1	2	3	4
7	S. lutea	S. lutea d = 3 мм (середня), правильно кругла, край рівний, непрозора, з піднятою у вигляді соска серединою, глянцева, S-форма, у центрі яскравіше, жовтого кольору, в'язка	Гр+ коки, скупчення, пакети, окислюють глюкозу до CO_2 та H_2O
8	Mycobacterium spp.	d = 8 мм (велика), округла, край хвилястий, непрозора, опукла, матова, R-форма, у центрі округла ділянка горбистості, молочно-білого кольору, пастоподібна	Гр+ палички зібрані в нитки, заплутані та гілчасті, зброджують глюкозу, маніт і фруктозу з виділенням кислоти, викликають помутніння МПБ; виростає на простому ГМФ-агарі за 48 год.
9	Pseudomonas spp.	d = 1 мм (дрібна), правильно кругла, край рівний, непрозора, куполоподібна, глянцева, S-форма, яскраво-помаранчевого кольору, в'язка	Гр-, дрібні палички, рівномірно розповсюджені; метаболізм незброджувальний
10	Enterobacter spp.	Множинні, d = 0,5—1 мм (дрібні), правильно круглі, край рівний, непрозорі, плоскі, матові, R-форми, сіро-бежевого кольору, на петлю знімається цілком у вигляді плівки	Гр- палички із закругленими кінцями, зброджують глюкозу з виділенням кислоти, CO_2, на середовищі Лєвіна утворюють рожеві колонії

В експериментальних зразках було виявлено представників родів Staphylococcus (колонії № 4—6), Mycobacterium (колонія № 8), Pseudomonas (колонія № 9), Enterobacter (колонія № 10), B. subtilis (колонії № 1—3), B. mycoides (колонія № 2) та S. lutea (колонія № 7). У зразку контрольного змиву виявлено аналогічні колонії сапрофітів та інші мікроорганізми, які не становлять наукового інтересу в цьому експерименті через відсутність їх активного зростання в експериментальних зразках з кров'ю. Наявність аналогічної мікрофлори у контрольному зразку свідчить про те, що навколишнє середовище є джерелом розповсюдження виявлених мікробів, відсутність великої кількості колоній на ГМФ-агарі — про слабке зростання у зразках, що не містять крові, як поживного субстрату. У контрольному зразку марлі зростання мікрофлори не виявлено.

Свідченням визначення гемолітичної активності мікроорганізмів у колоніях № 1—10 стали зміни кольору поживного середовища після дводобового контакту. Отже, отриманий прояв гемолітичної активності дозволив оцінити виділені мікроорганізми як контамінанти, що псують кров, тобто містять гемолізини (специфічні ферменти). За результатами проведених досліджень було встановлено, що виділені мікроорганізми здатні до гемолізу різних типів (табл. 2).

Таблиця 2

Типи гемолізу виділених мікроорганізмів

Назва мікроорганізму або роду		B.subtilis	B.mycoides	B.subtilis	Staphylococcus spp.	Staphylococcus spp.	Staphylococcus spp.	S. lutea	Mycobacterium spp.	Pseudomonas spp.	Enterobacter spp.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Тип гемолізу	1 зразок	β	β	β	γ	γ	β	β	β	β	α
	2 зразок	β	β	β	γ	γ	β	β	β	β	α
	3 зразок	β	β	β	γ	γ	β	β	β	α	α

Альфа-гемоліз (α) — це перетворення гемоглобіну в метгемоглобін у середовищі, яке оточує колонію, що призводить до зміни кольору середовища навколо неї на зелений. Бета-гемоліз (β) — це лізис червоних кров'яних клітин за рахунок руйнування мембрани еритроцитів, що утворює зони просвітління навколо колонії. Гамма-гемоліз (γ) — це слабкий гемоліз, за якого не відбуваються ані руйнування червоних кров'яних клітин, ані зміни у середовищі.

Для подальших досліджень було обрано 6 виділених культур: B. subtilis, B. mycoides, S. lutea, Mycobacterium spp., Pseudomonas spp., Enterobacter spp., які здатні до α- і β-гемолізу і можуть пошкоджувати структурні елементи крові та білки.

З метою визначення групових антигенів і гетероантигенів, що трапляються у неспоріднених представників різних видів організмів і можуть мати спільну будову антигенних детермінант, у СІЕ застосовують реакцію абсорбції-елюції (далі — РАЕ) і метод покривного скла за Ляттесом.

Для визначення впливу мікроорганізмів на результати реакції абсорбції-елюції та дослідження за методом Ляттеса навмисно заражали досліджувані зразки крові мікроорганізмами (№ 1—10). Для цього на марлі з 0,9-процентним розчином NaCl наносили суспензії мікроорганізмів з культур № 1—10 у кількості 9х108 КУО/мл. Кількість мікробних клітин розраховували спектрофотометрично за стандартами мутності McFarland [11].

Результати визначення типу ізогемаглютиногенів за допомогою РАЕ у зразках крові з відомою групою, попередньо заражених мікроорганізмами крові, наведено в таблиці 3. Під час інтерпретації результатів ураховували такі особливості перебігу реакції аглютинації:

– за певних умов (наприклад, за відсутності солей) перша фаза аглютинації може пройти, а друга — ні;

– з'єднання антигену з антитілом оборотне; міцність їх з'єднання залежить від взаємодії полівалентного антитіла з полідетермінантним антигеном;

– вилучені зі сліду крові імунних комплексів антитіла зберігають антигензв'язуючу активність і не відрізняються за хімічними і фізичними властивостями від нативних антитіл;

– двовалентність антитіл забезпечує можливість об'єднання необмеженого числа антигенних частинок у конгломерати;

– у разі надлишку антигену або антитіл великі конгломерати взагалі не виникають внаслідок блокування реагуючих ділянок молекул надмірною кількістю другого компонента (внаслідок цього за допомогою реакції антиген-антитіло концентрацію обох реагентів найбільше виявляють тільки в певному діапазоні, у так званій зоні еквівалентності).

Феномен аглютинації полягає в тому, що антигени еритроцитів під впливом антитіл склеюються між собою, але на цей процес можуть впливати деякі гетероантигени мікроорганізмів, а також їх метаболіти [12].

Антигени у кожній відомій групі крові, зараженій певним мікроорганізмом, визначали із застосуванням РАЕ у 9 повтореннях. Це дозволило оцінити вплив мікроорганізмів на виявляємість антигенів у мікробозараженій крові.

Таблиця 3

Визначення антигенів системи АВ0 у зразках мікробозараженої крові

Назва мікроорганізму, яким заражено зразок	Антигени, виявлені у відомих групах крові системи АВ0											
	0 (I)			A (II)			B (III)			AB (IV)		
1	2			3			4			5		
B. subtilis	—	—	—	A	A	A	—	—	B	AB	AB	B
	—	—	—	A	—	A	—	B	B	AB	A	AB
	—	—	—	A	A	A	B	B	—	—	A	AB
B. mycoides	—	—	—	A	A	A	B	B	B	AB	AB	AB
	—	—	—	A	A	A	B	B	B	B	AB	AB
	—	—	—	A	A	A	B	—	B	AB	AB	AB
S. lutea	—	—	—	A	A	A	B	B	B	AB	AB	AB
	—	—	—	A	A	A	B	B	B	AB	AB	AB
	—	—	—	A	A	A	B	B	B	AB	AB	AB
Mycobacterium spp	—	—	—	A	A	A	B	B	B	AB	AB	AB
	—	—	—	A	A	A	B	B	—	AB	AB	AB
	—	—	—	A	—	A	B	B	B	AB	AB	—
Pseudomonas spp.	—	—	—	A	—	A	—	AB	A	—	A	AB
	—	A	—	A	A	A	—	B	B	—	—	AB
	—	—	—	A	A	—	B	AB	—	—	—	AB
Enterobacter spp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Контрольний зразок	—	—	—	A	A	A	B	B	B	AB	AB	AB

Примітка: «—» — не виявлено, А — виявлено антиген А, В — виявлено антиген В

Як видно з таблиці 3, S.lutea, B.mycoides, Mycobacterium spp. майже не вплинули на результат визначення антигенів крові, адже результати дослідження

заражених ними зразків крові практично не відрізняються від контрольних. У крові, зараженій Enterobacter spp., не виявлено будь-яких антигенів, що може свідчити про наявність у цій групи мікроорганізмів ферментів (вірогідно, протеїназу), здатних ушкоджувати антигенні детермінанти еритроцитів або специфічні до них антитіла. Представники родини Pseudomonas мають тенденцію до внесення у систему детермінант, подібних до антигену А, та в окремих випадках можуть частково руйнувати антигени А та (чи) В. Зараження крові B.subtilis вочевидь призводить до деструкції антигену В, при цьому впливу на антиген А майже не відбувається.

Вплив мікроорганізмів на виявлення ізогемаглютинінів крові визначали за допомогою методу покривного скла за Ляттесом, результат оцінювали за наявності аглютинації. Дослідження зі зразками крові, зараженої мікроорганізмами, повторювали дев'ять разів. Результати, отримані під час мікроскопічного дослідження аглютинатів, наведено в таблиці 4.

Таблиця 4

Визначення ізогемаглютинінів у зразках мікробозараженої крові

Назва мікроорганізму, яким заражено зразок	**Виявлені аглютиніни у відомих групах крові**											
	0 (I)			**A (II)**			**B (III)**			**AB (IV)**		
1	**2**			**3**			**4**			**5**		
B. subtilis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. mycoides	α	—	αβ	β	β	—	α	α	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	α	α	—	—	—
	α	αβ	—	β	—	B	—	—	α	—	—	—
S. lutea	α	—	—	β	β	β	α	α	α	—	—	—
	αβ	αβ	αβ	β	β	β	α	α	α	—	—	—
	αβ	αβ	αβ	β	β	β	α	α	α	—	—	—
Mycobacterium spp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pseudomonas spp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Enterobacter spp.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Контроль	αβ	αβ	αβ	β	β	β	α	α	α	—	—	—

Примітка: «—» — не виявлено, α — виявлено ізогемаглютинін α, β — виявлено ізогемаглютинін β.

Відомо, що аглютиніни не стійкі до навколишнього середовища. Як видно з таблиці 4, досліджувані мікроорганізми виявили агресивність до аглютинінів (так, B.subtilis, Mycobacterium spp., Pseudomonas spp., Enterobacter spp. призводили до повної, а B.mycoides — до часткової деградації їх у зразках). S.lutea майже не впливала на перебіг реакції Ляттеса.

Підсумовуючи зазначене, слід окреслити певні особливості, виявлені в результаті проведення дослідження.

Еритроцитарні антигени крові розщеплюють кислотами, водними розчинами лугів і специфічними ферментами, найчастіше класу гідролаз [13]. Якщо до вологого зразка крові за сприятливих умов потрапляє мікроорганізм, що здатний синтезувати такі ферменти, є висока вірогідність того, що еритроцитарні антигени можуть бути зруйновані. Яскравим представником таких мікроорганізмів є широко розповсюджена у навколишньому середовищі бактерія Bacillus subtilis, так звана сінна паличка. Зважаючи на зазначене, можлива ситуація, коли, наприклад, еритроцити містять А-антиген у великій кількості та В-антиген у меншій кількості, а зразок крові без видимих змін кольору та запаху. Через певний час може статися так, що А-антиген ще залишиться у зразку, а В-антиген буде повністю чи частково зруйнований, і тому його буде проблематично виявити за допомогою відповідних сироваток. Таким чином, маємо приклад хибнонегативної реакції, коли в мікробозараженому зразку групи крові АВ (IV) за системою АВ0 виявлено лише А-антиген, що характерно для групи крові А (II) (аглютиніни при цьому у зразку не виявляються).

Характерним є ще один приклад хибнопозитивного висновку дослідження РАЕ. Бактерії роду Pseudomonas, що широко розповсюджені в навколишньому середовищі, за сприятливих умов активно розмножуються. Псевдомонади володіють гемолітичною активністю, їх антигенна структура вивчена недостатньо, серологічні дослідження цього типу досі не проводили [14]. У проведеному дослідженні у зразках крові В (III) в окремих повтореннях було виявлено не характерні для цієї групи А-антигени за відсутності В-антигену, в інших зразках А-антигени виявляли сумісно з В-антигенами, було зафіксовано і повну відсутність антигенів у зразках. Отже, за відсутності повторень помилка неминуча (можливо, гетероантиген Pseudomonas spp. має детермінанту, подібну до антигену А системи АВ0, як Yersinia pestis має детермінанту, подібну до антигену Н).

Таким чином, зазначене підтверджує, що сапрофітні мікроорганізми, потрапляючи в об'єкт, який містить кров, значною мірою впливають на перебіг та результати біолого-криміналістичного дослідження і здатні не лише повністю знищити цей об'єкт, а й призвести до хибних результатів цього дослідження та неправдивих висновків.

Список використаної та рекомендованої літератури

1. *Бакулина Н.А.* Микробиология / Н.А. Бакулина, Э.Л. Краева. — М. : Медицина, 1976. — 424 с.

2. *Стегнова Т.В.* Исследование гнилостно измененных следов крови и выделений человека : информ. письмо / Стегнова Т.В., Перепечина И.О., Уалерианова Л.П. — М. : ЭКЦ МВД России, 1992. — 8 с.

3. *Судебная* медицина : учеб. пособ. для вузов / [под ред. А.Ф. Волынского] [Электронный ресурс]. — М. : ЮНИТИ-ДАНА, Закон и право, 2000. — 639 с. — Режим доступа : http://medbookaide.ru/books/fold1002/book1617/p1.php.

4. *Соколова І.Є.* Основи імунології : підручник / Соколова І.Є., Вінніков А.І., Поліщко Т.М. — Дніпропетровськ : Вид-во Дніпропетр. нац. ун-ту, 2007. — 560 с.

5. *Дяченко Н.М.* Судово-медичні імунологічні дослідження слідів крові та виділень : збір. метод. реком. / Дяченко Н.М., Єрмолаєва А.О., Чепіга С.М. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2005. — 70 с.

6. *Туманов А.К.* Основы судебно-медицинской экспертизы / А.К. Туманов. — М. : Медицина, 1975. — 232 с.

7. *Ситник І.О.* Мікробіологія, вірусологія, імунологія : підручник / Ситник І.О., Климюк С.І., Творко М.С. — Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. — 392 с.

8. *Руководство* к практическим занятиям по микробиологии : учеб. пособ. / [под ред. Н.С. Егорова]. — 3-е изд., перераб. и доп. — М. : Изд-во МГУ, 1995. — 224 с.

9. *Краткий* определитель бактерий Берги / [под ред. Дж. Хоулта] ; пер. с англ. — М., 1980. — 495 с.

10. *Єрмолаєва А.О.* Методи проведення імунологічних досліджень у експертизах слідів біологічного походження та формування висновків : метод. посіб. / А.О. Єрмолаєва, С.М. Чепіга. — К. : ДНДЕКЦ МВС України, 2011. — 77 с.

11. *Логинов Н.Я.* Аналитическая химия : учеб. пособ. для студентов химико-биол. и биолого-хим. спец. пед. ин-тов / Логинов Н.Я., Воскресенский А.Г., Солодкин И.С. — 2-е изд., перераб. — М. : Просвещение, 1979. — 480 с.

12. *Иммунология* : в 3-х т. / [под ред. У. Пола] ; пер. с англ. — М. : Мир, 1987. — Т. 3. — 360 с.

13. *Видершайн Г.Я.* Гликозидазы в нормальной клетке и при наследственных нарушениях распада углеводсодержащих соединений / Г.Я. Видершайн // Успехи биологической химии. — 1977. — Т. 18. — С. 185.

14. *Ed. GL. Gilardi* Glucose nonfermenting gram-negative bacteria in clinical Microbiology / Ed. GL. Gilardi. — New York : CRC Press, Inc., 1978.

15. *Барышева М.В.* Исследование запаховых следов, ДНК, групповых антигенов и клеточных структур в комплексной экспертизе биологических следов человека / Барышева М.В., Лащ-Завада А.Ю., Саламатин А.В. // Криміналістичний вісник. — 2008. — Вип. 2 (10). — С. 120—126.