

شناسایی مایع منی و بزاق با استفاده از پردازشگر نور (PL500)

سعید زندیه (مرکز تشخیص هویت پلیس آگاهی تهران بزرگ)

مجتبی سعادت‌نی (PhD) (استادیار دانشگاه امام حسین (ع))

تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲ تاریخ پذیرش: ۸۷/۳/۲۴

چکیده:

یکی از روش‌های مناسب جهت شناسایی مایعات بیولوژیک بدن در موارد جنایی (تجاوزات و خشونت‌های جنسی)، استفاده از پردازشگر نور (PL500) با طیف‌های نوری مختلف است، بازتابش هر کدام از طول موج‌های تابیده شده به مایعات بدن باعث ایجاد فلورسانس می‌شود و استفاده از این منبع نور و ایجاد خاصیت فلورسانس سبب شناسایی ترشحات بدن در شرایط مناسب می‌شود. مطالعه اخیر در جهت جداسازی مایع منی (انسانی و حیوانی) و بزاق (انسانی) در شرایط مختلف و انواع رنگ‌های پس زمینه ای الیاف مختلف انجام شد.

لباس‌های آغشته به نمونه‌های مایع منی و بزاق برای ۵-۳ هفته نگهداری شدند و برخی از آنها توسط دترجنت‌های خانگی و آب با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد شستشو شدند، سپس با استفاده از پردازشگر نوری قابل حمل PL 500 و با طول موج‌های ۳۲۰nm ماورای بنفش تا ۷۰۰nm نور مرئی و مادون قرمز و عینک‌های رنگی و فیلترهای مختلف لکه‌های مورد نظر بررسی شدند.

بهره‌گیری از طول موج مناسب و فیلتر متناسب سبب آشکار شدن لکه‌های مایع منی و بزاق حتی در محیطی که تاریکی مطلق نیز وجود نداشته باشد ممکن است، تفاوتی از لحاظ شدت فلوروسانس ایجاد شده میان نمونه‌هایی که ۳-۵ هفته از نگهداری آنها گذشته وجود ندارد و بهترین نتایج برای مایع منی و بزاق، در طول موج بین ۴۱۵ - ۴۹۰ نانومتر به دست آمد. ترشحات غدد پروستات در مایع منی و پروتئین‌های غدد بزاقی در ترشحات بزاق، سبب ایجاد فلوروسانس می‌شود، برای آشکار سازی تمامی مایعات بدن استفاده از طول موج ۳۵۰ - ۵۰۰ نانومتر با استفاده از عینک‌های (نارنجی «۵۰۰» نانومتر) و یا قرمز («۵۹۰») مایع منی را می‌توان به طور ۱۰۰٪ و بزاق را در ۶۰٪ موارد جدا نمود. شستشوی نمونه‌ها با دترجنت سبب حذف لکه‌های بیولوژیک در ۷۵٪ موارد می‌شود و رنگ مشککی سبب جذب بیشتر سیگنال‌های فلوروسانس شده، به همین دلیل زمینه‌ای که بزاق و مایع منی بر روی آن قرار دارد در جداسازی و شناسایی آنها مؤثر است.

کلید واژه‌ها:

مایع منی، بزاق، پردازشگر نور، PL۵۰۰

مقدمه:

جداسازی مایع منی در موارد جنایی (تجاوزات جنسی) جهت انجام DNA typing بسیار مهم است، بزاق و منی وقتی که در معرض طول موج‌های معینی قرار گیرند دارای خاصیت فلوروسانس می‌شوند،^(۱) لامپ‌های (Ultraviolet) (UV) امواج مختلف در محدوده ۳۲۰ - ۴۰۰ nm را تولید می‌کنند، در سال ۱۹۱۹ این خاصیت توسط Woods گزارش شده است (۱)، به هر حال این خاصیت توسط افراد دیگر نیز آزمایش و گزارش شده است (۲ و ۴) بازتابش نور برای مایع منی در طول موج‌های ۵۰۰ تا ۳۰۰ نانومتر است و حداکثر پیک بازتابش حدود ۴۶۰-۵۲۰ نانومتر (۲-۵) یا ۴۰۰-۷۰۰ نانومتر است (۶) بازتابش از نمونه‌های بزاق حداکثر در ۳۴۵-۳۵۵ نانومتر هستند اما اگر بر روی پوست بدن انسان به دنبال آن باشیم باید از طول موج ۲۸۲ نانومتر استفاده کرد. شناسایی بزاق به وسیله تابش منبع نور کار مشکلی

است (۸) موفقیت شناسایی بزاق در حدود ۳۰٪ موارد به وسیله نور لیزر آرگون با ۴۵۴/۵ تا ۵۱۴/۵ نانومتر توسط Kobus گزارش شده است. (۹) بزاق را می توان توسط تست آمیلاز مورد بررسی قرار داد، اما این آزمایش جزء تست های تهاجمی بوده و در مورد لکه های کوچک به دلیل آسیب و از بین بردن آنها و عدم انجام آزمایش های تکمیلی بعدی مناسب نیست. اما استفاده از یک روش غیر تهاجمی و تخریبی مثل استفاده از منبع نور، بسیار کمک کننده است و سبب می شود لکه های بسیار کوچک حفظ شده و قابل استفاده در آزمایش های سرولوژی و ژنتیکی باشند، در این تحقیق از دستگاه PL ۵۰۰ (شکل شماره ۱) که دارای طول موج های بین ۳۲۰ تا ۷۰۰ نانومتر و فیلترهای خاص است استفاده شد، از مزایای آن می توان به ایجاد طیف وسیعی از طول موج های مختلف، قابل حمل بودن و از بین رفتن نمونه در طی آزمایش اشاره کرد، که آن را جهت استفاده در صحنه های جنایی مناسب نموده است.

در این تحقیق حداکثر تلاش جهت جداسازی مایع منی و بزاق بر روی اشیاء مختلف و البسه متمرکز شد، زیرا ترشحات بدن معمولاً "بر روی البسه قربانی و اشیاء موجود در صحنه جرم باقی می ماند. به همین دلیل انواع مایعات بدن بر روی اشیاء و الیاف با رنگ های مختلف آزمایش شدند و پس زمینه متفاوت با رنگ های متنوع آزمایش شد زیرا در برخی شرایط رنگ های خاص ممکن است ایجاد فلورسانس نمایند، که باید این واکنش های مثبت کاذب کاملاً تشخیص داده شوند (۱۰)، بنابراین تست های جداسازی مایع منی و بزاق بر روی پس زمینه های مختلف با انواع رنگ های متفاوت انجام شد، لکه ها برای مدت ۳-۵ هفته نگهداری و سپس آنالیز شدند، برخی از نمونه ها با دترجنت های مختلف (خانگی) شستشو و سپس مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روشها:

۱۰ تکه از انواع پارچه های مختلف (البسه) با بافت ها و رنگ های متفاوت و جنس های متنوع شامل کتون ۱۰۰ درصد، پلی استر ۱۰۰ درصد، پلی آمید ۱۰۰ درصد، ۹۵ درصد کتون و ۵ درصد Spandex، ۷۳ درصد کتون و ۲۴ درصد پلی آمید و ۳ درصد Spandex، ۸۰ درصد

پلی آمید و ۲۰ درصد Spandex تهیه شد.

براساس تنوع رنگ‌ها و طرح‌های پارچه‌ها، آنها به سه دسته تقسیم شدند:
الف) روشن (سفید، آبی، صورتی)، ب) متوسط (آبی، سبز، زرد، نارنجی و قرمز) و ج)
تیره (سیاه و قهوه‌ای).

نمونه منی انسانی از افرادی که به آزمایشگاه تشخیص طبی جهت اسپرموگرام مراجعه کرده بودند تهیه شد و مایع منی گاو (به شماره سریال ۱۱۸۲۲۵ APIS.R.B.۰۷HO۷۶۷) از مرکز اصلاح ژنتیک گاو گوشتی و شیری شده، تهیه شد. نمونه‌های منی در یخچال با دمای +۱۰ درجه سانتیگراد (بدون یخ زدگی) برای ۱۲ ساعت (انسانی) و ۲۰ ساعت (حیوانی) بعد از جمع‌آوری نگهداری شد.

نمونه‌های بزاق انسانی نیز بطور مستقیم پس از جمع‌آوری بر روی زمینه‌های مختلف ریخته شد، لکه‌های ایجاد شده بر روی البسه برای مدت ۶ ساعت در دمای +۲۵ درجه سانتیگراد خشک شده و در داخل پاکت‌های کاغذی قرار گرفت و در دمای اتاق برای مدت ۳ الی ۵ هفته نگهداری شد.

برای آزمایش میزان اثر مواد دترجنت بر روی لکه‌ها، آنها با آب دارای دمای +۳۰ درجه سانتیگراد و استفاده از شوینده‌های تجاری خانگی در داخل ماشین لباسشویی شستشو شدند، سپس پارچه‌ها برای مدت یک روز در دمای اتاق نگهداری شد تا کاملاً خشک شوند. برای بررسی بهتر، پارچه‌ها به دو دسته تقسیم شدند:

الف) دسته‌ای از پارچه‌ها که بدون هیچ‌گونه مواد شوینده‌ای تنها برای مدت ۳ الی ۵ هفته نگهداری شدند، ب) پارچه‌هایی که با آب خالص، آب ژاول و یا پودر لباسشویی شستشو شدند. سپس آنها توسط دستگاه PL ۵۰۰ با طول موج‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند.

منبع نوری:

دستگاه PL ۵۰۰ ساخت کشور آلمان دارای ۱۲ باندهای نوری است که با برق AC شهری با

ولتاژ ۸۵ تا ۲۶۵ ولت و فرکانسی بین ۵۰ تا ۶۰ هرتز کار می‌کند، این دستگاه پرتابل بوده و مناسب برای صحنه‌های جنایی است، "وزن آن در حدود ۱۰ کیلوگرم است و دارای محافظ تمام فلزی است و قابلیت اتصال به باطری را نیز دارد، و دارای لامپ گزنون است که طول موج‌های (۳۲۰-۴۰۰) و مرئی (۷۰۰-۴۰۰) را تولید می‌کند و قابلیت آشکار سازی لکه‌های بیولوژیک را دارد و دارای یک شیلنگ قابل انعطاف به طول دو متر برای بررسی لکه‌های در تمام زوایاست. (شکل شماره ۱)

طول موج‌ها را می‌توان به ۱۰ قسمت تقسیم بندی کرد:

۷۰۰-۴۰۰، ۵۰۰-۳۵۰، ۵۰۰-۴۰۰، ۴۰۰-۳۲۰، ۴۱۵، ۴۴۰، ۴۶۰، ۴۹۰، ۵۵۰، ۵۷۰ که آنها را با سه نوع عینک سفید (nm ۴۰۰)، نارنجی (nm ۵۰۰) و قرمز (nm ۵۹۰) جهت محدود کردن سایر طول موجها و رؤیت فلورسانس می‌توان استفاده کرد. (نمودار شماره ۱)

دسته بندی آزمایش‌ها:

نمونه‌ها را در فاصله حدود ۷ سانتی متری از هم قرار داده و آزمایش‌ها بر روی لکه‌های بیولوژیک در شرایط تاریک انجام می‌شود و این کار توسط سه نفر بطور مجزا انجام شد و هر کدام نتایج را جداگانه گزارش کردند. (شکل شماره ۲)

نتایج:

استفاده از عینک‌های مناسب موارد تشخیص را تا ۱۰۰ درصد افزایش می‌دهد و در مورد البسه شستشو شده بزاق را تا ۶۰ درصد می‌توان شناسایی نمود. مایع منی در حدود ۵۵ درصد موارد با عینک‌های قرمز رنگ و در ۵۰ درصد موارد با عینک‌های نارنجی و در ۲۰ درصد با عینک‌های سفید قابل رؤیت است، شدت فلورسانس بزاق ضعیفتر از مایع منی است، انتخاب طول موج‌های مناسب (باندهای ویژه) شناسایی را آسان می‌نماید.

بهترین نتایج برای جدا سازی مایع منی و بزاق زمانی به دست آمد که از طول موج بین ۴۹۰-۴۱۵ نانومتر استفاده شد. در این باند، میزان شناسایی در موارد شستشو نشده البسه با

عینک‌های قرمز و نارنجی در حدود ۶۵ درصد برای مایع منی و ۸۰ درصد مایع بزاق قابل تشخیص هستند، برای جستجوی عمومی مایعات بدن انسانی و منی حیوانات از طول موج‌های ۵۰۰-۳۵۰ نانومتر بهترین نتیجه حاصل خواهد شد. شدت سیگنال‌های فلورسانس برای نمونه‌هایی که مدت ۳ الی ۵ هفته باقی مانده اند یکسان است.

بعد از شستشوی البسه برای مدت نیم ساعت توسط ماشین لباسشویی با آب دارای دمای ۳۰+ درجه سانتیگراد و دترجنت‌های خانگی مورد بررسی قرار گرفتند که ۸۵ درصد شدت فلورسانس تقلیل یافت. بطور معمول سیگنال‌های فلورسانس در شرایط روشنایی نسبت به تاریکی در بیشتر موارد کاهش می‌یابد اما استفاده از عینک‌های نارنجی و قرمز این اجازه را می‌دهند فلورسانس ساطع شده رؤیت شود. جنس الیاف پس زمینه‌ها در شناسایی لکه‌های بیولوژیک مؤثر نیست، اما رنگ الیاف در مشاهده لکه‌ها مؤثر است، رنگ‌های تیره باعث کاهش میزان تشخیص نمونه‌های جزئی می‌شود. بطور ویژه رنگ مشکی مطلق باعث جذب نور فلورسانس باز تابش شده می‌شود، بنابراین مایع منی و بزاق در موارد جزئی غیر قابل رؤیت و یا تشخیص، بسیار سخت می‌شود.

بحث:

بخش اصلی در هر انزال آب بوده که با سلول‌های اسپرم (اسپرماتوزوم) همراه است و مایع منی شامل پروتئین، کربوهیدرات، چربی‌ها، قند و مواد معدنی است و مقدار اندکی نیز از سدیم، کلسیم، اسید سیتریک، کلسترول، کلرین، کلسترول، روی، ویتامین B_{۱۲}، منیزوم، نیتروژن، پتاسیم، فسفر، فروکتوز، سلنیوم، اسید لاکتیک، اسکوربیک اسید، آنتی ژن‌های گروه خونی، کراتینین، فسفاتاز، گلو تیون، اسید پیروات، سوربیتول، اوره، اسید اوریک، aboutonia. choline، هیالورونیک اسید، اینوزیتول، پورین، پیریمیدین، اسپرمیدین و اسپرمین است. (۳، ۵، ۴)

با به کار بردن منبع نور با کاربرد جنایی (PL۵۰۰) جدا سازی لکه‌های بیولوژیک را می‌توان در آزمایشگاه و یا در صحنه‌های جنایی جستجو کرد، با استفاده از فیلترهای مناسب جهت

محدود کردن طیف‌های نامطلوب محیطی به راحتی فلورسانس ساطع شده از نمونه‌ها قابل مشاهده می‌شود. برای مایع منی و بزاق استفاده از عینکهای نارنجی (nm ۵۰۰) بهترین انتخاب است و در زمانی که جستجوی همزمان مایع منی و بزاق مد نظر است، استفاده از عینک‌های قرمز (nm ۵۹۰) توصیه می‌شود.

عینک‌های سفید به هیچ عنوان برای جدا سازی و جستجوی مایعات بیولوژیک توصیه نمی‌شود، زیرا قابلیت جذب طیف‌های نامطلوب را ندارد و فلورسانس بزاق و منی غیر قابل تشخیص می‌شود. باید توجه داشت که سیگنال‌های فلورسانس بزاق بطور معمول ضعیف است و جهت تشخیص موارد جزئی باید از سایر روش‌ها که در این خصوص وجود دارد استفاده کرد. (۱۱) بهره‌گیری از این منبع نور، روش تشخیصی غیر تهاجمی و اولیه جهت مشخص کردن بزاق بر روی البسه شستشو نشده می‌باشد، زیرا شستشوی لکه‌ها معمولاً "سبب پاک شدن آنها می‌شود، که باید به این نکته توجه شود.

انجام آزمایش بر روی انواع زمینه‌ها (کتون، پلی استر، پلی آمید، spandex) سبب حذف خاصیت فلورسانس لکه‌ها نمی‌شود، ولی رنگ‌های تیره پس زمینه می‌تواند سبب جذب و کاهش فلورسانس ساطع شده گردد و جستجوی لکه‌ها را با مشکل مواجه کند.

مقایسه میان میزان فلورسانس مایع منی انسانی و حیوانی نشان داد که میزان فلورسانس نوع انسانی بیشتر از حیوانی است این طور به نظر می‌رسد که سایر مواد موجود در مایع منی (بجز سلولهای اسپرم) دارای خاصیت فلورسانس باشند که می‌تواند به دلیل ترشحات غدد پروستات (شامل فروکتوز، فسفوریل کولین، ارگوتیونین، اسکوربیک اسید، پروستگلانندین، اسید ستریك، کلسترول، فسفولیپید، فیبرینولیزین، گلوتامین اسید و روی) و اپیدیدم (کارنتین و لستین) باشد. (۱۲) در ترشحات بزاق نیز پروتئین‌های غدد بزاقی (آلفا - آمیلاز، پروتئیناز، dnase.Rnase) و الکترولیت‌ها و دیگر ترکیبات باکتریایی، سلول‌های اپیتلیال، اریتروسیت‌ها، لکوسیت‌ها و باقیمانده مواد غذایی می‌تواند سبب ایجاد فلورسانس شود. (۱۳).

REFERENCES

- [1] Woods, R.W. J. de Physique Theor. Et Appl., 1919, 59, 77-90.
- [2] Stoilovic, M. Forensic Sci. In t., 1991, 51, 289-96.
- [3] Santucci, K.A.; Nelson, D.G.; McQuillen, K.K.; Duffy, S.J.; Linakis, J.G. Pediatrics, 1999, 104(6), 1342-4.
- [4] Marshall, S.; Bennett, A.; Fraval, H. <http://www.bvda.com/EN/prdctinf/semenfluo.html> (Sept 06, 2007).
- [5] Wawryk, J.; Odell, M. J. Clin. Forensic Med., 2005, 12, 296-301.
- [6] Vandenberg, N.; van Oorschot, R.A.H. J Forensic Sci., 2006, 51(2), 361-70.
- [7] Soukos, N.S.; Crowley, K.; Bamberg, M.P.; Gilies, R.; Doukas, A. G.; Evans, R.; Kollias, N. Forensic Sci. Int., 2000, 114, 133-138.
- [8] Auvdel, M.J. J. Forensic Sci., 1987, 32, 326-45.
- [9] Kobus, H.J.; Silenieks, E.; Scharnberg, J. J. Forensic Sci., 2002, 47, 819-23.
- [10] Schenck, M.; Kolbe, E. Grundriß der physiologischen Chemie; Gustav Fischer: Jena, 1990.
- [11] Fiedler, A.; Rehdorf, J.E. J. Forensic Sci. , 2008, 1, 12-15
- [12] Aps, J.K.M.; Martens, L.C. Forensic Sci. Int., 2005, 150, 119-131.
- [13] Pschyrembel, W. Pschyrembel – Klinisches Wörterbuch, 259th ed.; Walter de Gryter: Berlin, 2002.

شکل شماره ۱:

دستگاه PL500 که دارای طیفهای مختلف نوری بوده و برای جستجو مایعات و آثار مختلف در صحنه جرم از آن استفاده می شود.



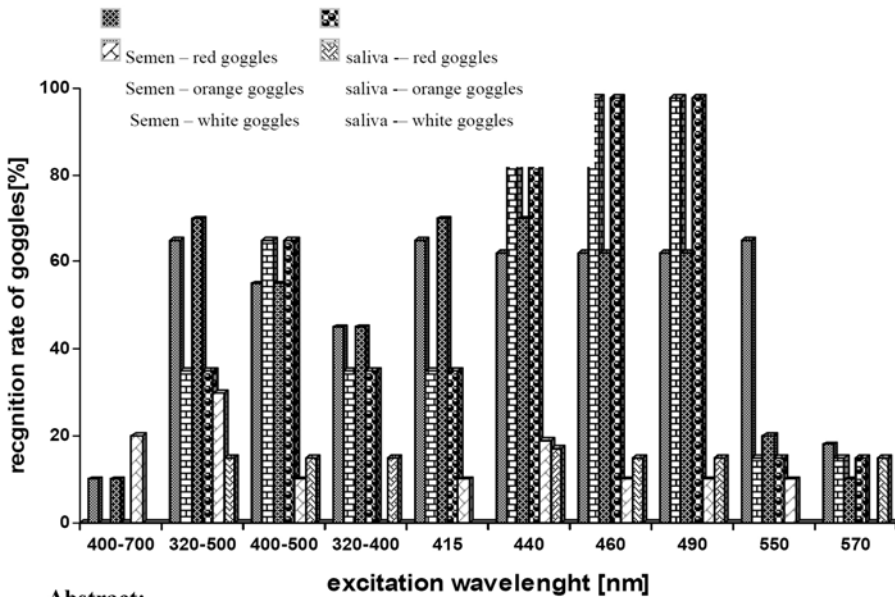
شکل شماره ۲:

نمونه‌های کشف شده در صحنه جرم و کنترل مثبت و منفی که از لحاظ وجود بزاق و اسپرم مورد آزمایش قرار گرفت و در طول موج ۴۲۰ نانومتر و عینک نارنجی رؤیت شد.



نمودار شماره ۱:

میزان تشخیص مایع منی و بزاق با استفاده از عینک‌های قرمز، نارنجی و سفید رنگ در طول موج‌های مختلف ایجاد شده توسط دستگاه PL۵۰۰



Abstract:

شناسایی مایع منی و بزاق با استفاده از پرواز شکر نور (PL۵۰۰)

کارگاه

۴۶
دوره دوم
سال دوم
بهار
شماره ۶