

Warszawa, dn. 15.06.2022 r.

Prof. dr hab. med. Paweł Krajewski  
z Zakładu Medycyny Sądowej WUM  
ul. W.Oczki 1, 02-007 Warszawa

## **RECENZJA**

rozprawy doktorskiej **lek. Macieja Janicy**

### **Wpływ warunków środowiska zewnętrznego na ujawnianie i identyfikację śladów krwi**

Sporządzona zgodnie z uchwałą Senatu Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z dnia 28.04.2022 r.

Ślady krwi, od początku istnienia współczesnej kryminalistyki, stanowią jeden z najważniejszych dowodów, na których opiera się rekonstrukcja zdarzeń związanych z przestępstwami przeciwko życiu i zdrowiu. W związku z postępem nauk biologicznych wielokierunkowa analiza śladów krwawych jest obecnie dziedziną kryminalistyki, której celem jest nie tylko podjęcie próby genetycznej identyfikacji osoby będącej źródłem krwawienia, ale również rekonstrukcja przebiegu zdarzenia i weryfikacja osobowych źródeł dowodowych w oparciu o umiejscowienie, kształt, wielkość śladów krwawych i co nie mniej istotne, ujawnienie śladów krwawych, które były poddane po zdarzeniu próbom usunięcia.

W tej ostatniej sytuacji z reguły plamy wykrywane są przy użyciu alternatywnych źródeł światła o określonej długości fali lub przy zastosowaniu chemiluminescencji, najczęściej przy zastosowaniu luminolu. Nowszym odczynnikiem o podobnym zastosowaniu, pozbawionym podstawowej wady luminolu tj. nietrwałości przygotowanego roztworu, jest odczynnik Bluestar Forensic.

#### **Doktorant sformułował następujące cele badawcze:**

1. Ocena możliwości wykorzystania źródła światła alternatywnego (ALS) w celu odróżnienia śladów krwi od śladów pozorowanych
2. Ustalenie poziomu czułości metody wizualizacji plam krwi przy użyciu źródła alternatywnego światła ALS oraz Bluestar Forensic

3. Ocena możliwości wizualizacji plam krwi poddanych zróżnicowanym warunkom środowiska zewnętrznego
4. Ocena możliwości identyfikacji genetycznej śladów krwi ludzkiej ujawnionych za pomocą światła alternatywnego (ALS) oraz preparatu Bluestar Forensic.

Przedstawiona praca ma układ klasyczny, liczy w sumie 121 stron, składa się z dwunastu rozdziałów obejmujących : wstęp, cel pracy i założenia badawcze, materiał i metody, wyniki, dyskusję, wnioski. Zakończenie pracy stanowią rozdziały zawierające streszczenie w języku polskim i angielskim, bibliografię, spisy rycin i tabel oraz wykaz skrótów wykorzystanych w pracy.

Szeroki wstęp, liczący 40 stron, podzielony na 21 podrozdziałów w sposób przejrzysty wprowadza czytelnika w problematykę analizy śladów krwawych.

Począwszy od fizjologii krwi jako tkanki, przez taktykę badania śladów krwawych na miejscu zdarzenia, mechanizm powstawania plam krwawych z uwzględnieniem warunków do przedstawienia współczesnych metod wykrywania i badań identyfikacyjnych śladów krwawych.

Celem pracy jest udzielenie odpowiedzi na pytania postawione powyżej *(na marginesie nie rozumiem, dlaczego numeracja celów pracy zaczyna się od numeru 3)*.

Materiał badawczy pracy stanowi materiał biologiczny w postaci 42 próbek krwi oraz krew pobrana od osób zmarłych oraz materiał pozorowany w postaci soku pomidorowego oraz czerwonej farby – nie podano jej rodzaju.

W pierwszej części badania krew została naniesiona na różne podłoża – skorodowany metal, drewno, tkaninę bawełnianą, kolorowe liście brzozy, ziemię ogrodową oraz fragment kości zwierzęcej, na te same materiały został naniesiony materiał pozorowany . Po wyschnięciu plamy były badane przy użyciu źródła światła alternatywnego z zastosowaniem stosownych filtrów. W następnym etapie plamy krwi nałożone na te same materiały zacierano przy pomocy czyszczenia powierzchniowego, pary wodnej, hodowli grzybów saprofitycznych a następnie wizualizowane przy użyciu alternatywnego źródła światła oraz odczynnika Bluestar Forensic a następnie powtarzano w odstępach 7 dniowych przez 56 dni. Wyniki tego etapu porównywano z przygotowanymi rozcieńczeniami krwi w wodzie destylowanej nakładanej na podłoża o różnych właściwościach fizykochemicznych.

Kolejnym etapem badania była ocena możliwości oznaczenia profili DNA, przy użyciu zestawu AmpFLSTR NGM Amplification Kit, z próbek plam, które zostały ujawnione

przy użyciu alternatywnego źródła światła oraz preparatu Bluestar Forensic przed i po zacieraniu.

Wyniki pracy wykazały brak możliwości wizualizacji przy użyciu alternatywnego źródła światła (ALS) w odniesieniu do plam krwawych naniesionych na skorodowany metal, ziemię ogrodową i liście oraz ograniczenie możliwości uwidocznienia plam na kości zwierzęcej, natomiast pozorowane plamy krwawe były widoczne na wszystkich badanych podłożach. W związku z powyższym możliwość wizualizacji plam po zacieraniu badano jedynie na podłożach kontrastowych tj. drewnie i tkaninie bawełnianej, na których po użyciu ALS udawało się uwidocznić plamy po szeregu cyklach z użyciem mydła i pary wodnej. W każdym przypadku zacierania plam, użycie chemiluminescencji przy zastosowaniu odczynnika Bluestar Forensic wykazało obecność reakcji. Kolejny etap badania polegał na badaniu rozcieńczenia krwi, w których wykrywalne były jej plamy, najlepszą wykrywalność uzyskano na powierzchni białej szklawionej płytki w przypadku użycia preparatu Bluestar Forensic 1:100000, jednak w przypadku podłoży chłonnych reakcja barwna chemiluminescencji była widoczna do rozcieńczenia 1:1000, zaś użycie ALS w tych warunkach pozwoliło na wykrycie plam przy rozcieńczeniu do 1:600. Ostatnim etapem pracy była ocena możliwości identyfikacji genetycznej plam krwi poddanych kolejnym rozcieńczeniom, ujawnianych przy pomocy ALS i odczynnika Bluestar. Przy użyciu zestawu AmpFLSTR NGM 100% oznaczalność *loci* zestawu uzyskano dla rozcieńczeń krwi do 1:5000, w przypadku plam zacieranych pełne profile tą metodą uzyskano dla ilości DNA przekraczających 0,1 ng.

Uzyskane wyniki zostały poddane na 12 stronach dyskusji w oparciu o aktualne piśmiennictwo, w której Doktorant skoncentrował się przede wszystkim na czynnikach zewnętrznych utrudniających uzyskanie pełnego profilu DNA. Ostatni akapit dyskusji dotyczy wpływu warunków środowiskowych na możliwość wykrycia krótkołańcuchowych fragmentów RNA, co nie ma związku z prowadzonymi badaniami.

W oparciu o uzyskane wyniki oraz ich dyskusję doktorant sformułował cztery wnioski stanowiące odpowiedzi na zagadnienia zawarte w celach pracy.

1. Użycie źródła światła alternatywnego ALS ułatwia ujawnianie plam krwi oraz dyskryminację plam pozorowanych przy zastosowaniu odpowiedniej kombinacji długości fali światła oraz filtra odcinającego. ALS nie pozwala na zróżnicowanie śladu krwi jako pochodzącego od osoby żywej, czy zmarłej.

2. Użycie źródła światła alternatywnego ALS umożliwia wizualizację plam krwi poddanych zacieraniu na różnych podłożach kontrastowych, przy zastosowaniu odpowiedniej długości fali świetlnej i zastosowanego filtra. Preparat Bluestar Forensic umożliwia wizualizację plam zatartych i silnie rozcieńczonych. Cechy strukturalne podłoża, na którym występują ślady wpływają na ich wygląd w świetle dziennym oraz w świetle alternatywnym. Wpływają również na intensywność fluorescencji i absorpcji fali świetlnej, co ma decydujące znaczenie w procesie ich ujawnienia i identyfikacji

3. Źródło światła alternatywnego ALS może być wykorzystane jako szybka i czuła metoda do wstępnego rozpoznania oraz wytypowania do dalszych badań identyfikacyjnych, nawet słabo widocznych śladów krwi pochodzenia ludzkiego poddanych zacieraniu. Preparat Bluestar Forensic jest skuteczniejszy w wizualizacji plam krwi rozcieńczonych (nawet do 1:100000 )

4. Czynniki zewnętrzne działające na podłoże i plamę krwi, w istotny sposób ograniczają możliwości wizualizacji i identyfikacji genetycznej. Trudności te dotyczą najwcześniej alleli D2S1338, D16S639, D18S51, FGA, D12S391 układu NGM PCR Amplification Kit. Nie zaobserwowano stałej kolejności „wypadania” alleli. Ujawnienie zatartych i rozcieńczonych śladów krwi umożliwia pełną identyfikację genetyczną materiału w przypadku poziomu stężeń powyżej 0,1 ng i rozcieńczenia materiału 1:20000.

W tym miejscu muszę zwrócić uwagę, że stosowane przez Doktoranta w pkt 4 wniosków określenie „stężenie powyżej 0,1 ng” (podobnie jak w pozostałej części pracy) odnosi się do masy, zaś stężenie winno być wyrażone w innych jednostkach np. ng/ $\mu$ l.

Dysertacja uzupełniona jest adekwatnie dobranym do tematu badań, aktualnym piśmiennictwem liczącym 124 pozycje, w większości anglojęzycznym, należy jednak zwrócić uwagę, że pozycje piśmiennictwa oznaczone 23 i 25 pokrywają się ze sobą.

Praca jest przejrzysta i czytelna, starannie przygotowana pod względem graficznym i językowym, jednak doktorant nie ustrzegł dość licznych błędów edytorskich, które wymagają poprawy.

Podsumowując stwierdzam, że z punktu widzenia medyka sądowego, praca jest ciekawa, jej cele zostały sformułowane prawidłowo, zastosowano prawidłową i adekwatną do materiału metodykę badawczą.

Podsumowując uważam, że praca lek. Macieja Janicy „Wpływ warunków środowiska zewnętrznego na ujawnianie i identyfikację śladów krwi” stanowi rozwiązanie problemu naukowego oraz spełnia kryteria stawiane dysertacjom naukowym na stopień doktora nauk medycznych w zakresie medycyny, określone w art. 13 ust. 1 Ustawy z dnia 13 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2003 nr 65, poz. 595 z późn. zm).

**W związku z tym mam zaszczyt przedstawić Senatowi Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku wniosek o dopuszczenie lek. Macieja Janicy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

z podziocierem  
P. Blaszczak