

NDJESHMËRIA, QËNDRUESHMËRIA DHE SPECIFICITETI I TESTIT PËR IDENTIFIKIMIN E GJAKUT KASTLE-MEYER

FAHRI GAVAZAJ, VALON MORINA

Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Pristina, REPUBLIC OF KOSOVA

Faculty of Mining and Metallurgy, University of Pristina, REPUBLIC OF KOSOVA

fgavazaj@yahoo.com

AKTET V, 1: 23 - 28, 2012

PËRMBLEDHJE

Duke përdorur testin supozues të gjakut Kastle-Meyer (KM) është studiuar prezenca a gjakut në gjendje dhe substrate të ndryshme për të vërtetuar ndjeshmërinë, specificitetin dhe qëndrueshmërinë e reagentëve që përdoren gjatë këtij testi. Janë përdorur mostra të gjakut në hollime të ndryshme, mostra gjaku të depozituara në substrate të ndryshme dhe mostra gjaku të depozituara në materiale tekstili të ndryshme të cilat janë pastruar me ujë, peroksid hidrogjeni 3%, janë hekurosuar, kanë kaluar nëpër flakë etj, gjithëashtu janë përdorur njolla nga frutet dhe perimet për të provuar specificitetin e testit. Metodatat e përdorura kanë qenë ajo me fërkim të njollave me letër filtruese dhe me prerje të një pjese të njollës. Edhe gjaku në gjendje të lëngshme është përdorur gjithëashtu. Testi supozues për identifikimin e gjakut Kastle-Meyer ose testi i Fenolftaleinës ka treguar të jetë shumë i ndjeshëm në prezencë të hemoglobinës në gjak, të jetë shumë specifik në hemoglobinë si dhe reagentët që përdoren për këtë test kanë treguar qëndrueshmëri për një kohë të gjatë. KM është test i sigurt, i lehtë dhe i shpejtë. Bazuar në rezultatet e fituara, si konkluzion sugjerojmë përdorimin e KM në të gjitha laboratorët e Forenzikës, sektorin e Serologjisë.

Fjalë kyçe: Kastle-Meyer, test supozues, fenolftalein, hemoglobinë, substrat.

SUMMARY

The presence of blood is studied in different ways and various matrix for Specificity, Sensitivity and Stability of reagents using Kastle-Meyer blood presumptive test. In this study is used blood samples in different dilution, blood in various matrix, blood in different fabrics and blood stains from different fabrics washed with water, soap and 3% hydrogen peroxide, blood stains in fabrics handling with heat and flame, also are used different fruits and vegetables for specificity of the test. The methods used were with rubbing and cutting of different matrix, the liquid blood is used as well. The Kastle-Meyer blood presumptive test or the phenolphthalein test for blood has been shown to be very sensitive to the presence of hemoglobin in blood, it has been shown to be so specific to hemoglobin and the reagents used with this test has been shown to be very stable for long time. The KM test is safe, easy and fast to use. Based on the results as conclusion we suggest using the Kastle-Meyer test in all forensic laboratories, serology part.

Key words: Kastle-Meyer, presumptive test, phenolphthalein, hemoglobin, matrix.

HYRJE

Identifikimi dhe zbulimi i njollave të gjakut në skena të ndryshme të krimin është dëshmi fizike e rëndësishme [2, 6]. Shkencëtarët e Forenzikës duhet të ekzaminonjë çdo lloj të materialit ekspozuar dhe trajtuar nën kushte të ndryshme me qëllim të përcaktimit të gjakut nëse është i

pranishëm ose jo. Mostrat e forenzikës mund të jenë ekspozuar kushteve të ndryshme deri sa janë dërguar në laborator, gjë e cila mund të sjell deri te degradimi i tyre [2,3]. Në disa raste, njollat e gjakut në dëshmi të ndryshme siç janë: rrobat, armët dhe dëshmitë e tjera fizike mund të lahen, të hedhen në ujë si dhe mund të jenë objekt i

ekspozimit ndaj faktorëve të mjedisit siç është nxehtësia dhe dheu si ambient kontaminues [3, 6]. Identifikimi i gjakut në rroba të materialit të ndryshëm, mostra të frutave dhe perimeve është studiuar nga Nancy P dhe Nancy S [6].

Përzierja e mostrave	KM: Me fërkim	KM: Me prerje
Gjak + Spermë	++	++++
Gjak + Pështymë	++	++++
Gjak + Lëng vagjinal	++	++++
Spermë + Lëng vagjinal	(-)	(-)
Spermë + Pështymë	(-)	(-)
Pështymë + Lëng vagjinal	(-)	(-)
Gjak + Spermë + Pështymë + Lëng vagjinal	++	+++

Tabela 1. Mostra të përziera: përzierje e dy e më

Mostra e freskët: Fresh		Mostra e terur	
1. Gjak	+	1. Gjak	+
2. Negativ kontroll	(-)	2. Negativ	(-)
3. Pështyma	(-)	3. Pështyma	(-)
4. Ndryshku	(-)	4. Ndryshku	(-)
5. Mjedra	(-)	5. Mjedra	(-)
6. Thana	(-)	6. Thana	(-)
7. Biberi i kuq	(-)	7. Biberi i kuq	(-)
8. Panxhari	(-)	8. Panxhari	(-)
9. Rrepka	(-)	9. Rrepka	(-)
10. Domatja	(-)	10. Domatja	(-)
11. Kulumbria	(-)	11.	(-)
12. Sperma	(-)	12. Sperma	(-)

Tabela 2. Specificiteti a reagon reagjenti me shumë lëngjeve trupore ndonjë substancë tjetër?

Në punimin tonë është studiuar gjaku në rroba dhe sipërfaqe të substrateve të ndryshme, mostra gjaku të holluara nga 1:5 deri 1:10.000, mostra gjaku të ekspozuara ndaj faktorëve te

ndryshëm të mjedisit si nxehtësia, lagështia, mikroorganizmat dhe kontaminantet tjerë dhe mostra të gjakut në rroba të ndryshme të cilat paraprakisht janë larë me ujë, sapun dhe 3% peroksid hidrogjeni [6].

Testi Kastle Meyer për herë të parë është përdorur rreth vitit 1926 [2]. Ai ka treguar të jetë shumë i ndjeshëm në praninë e hemoglobinës në gjak. Ai mund të zbulojë praninë e hemoglobinës në mostrat e gjakut, të holluara deri 1:100,000 [2, 4]. Ky është hollim aq i madh sa ngjyra thuajse nuk duket fare. Ky test është aq specifike ndaj hemoglobinës sa që nuk reagon as në ndryshk, e cila është një formë e hekurit në të njëjtin gjendje (Fe^{+3}) si ajo e hekurit në një njollë gjaku [2].

MATERIALI DHE METODA

Identifikimi dhe zbulimi i njollave të gjakut në skena të ndryshme të krimtës është dëshmi fizike e rëndësishme [2, 6]. Shkencëtarët e Forenzikës duhet të ekzaminojnë çdo lloj të materialit ekspozuar dhe trajtuar nën kushte të ndryshme me qëllim të përcaktimit të gjakut nëse është i pranishëm ose jo. Mostrat e forenzikës mund të jenë ekspozuar kushteve të ndryshme deri sa janë dërguar në laborator, gjë e cila mund të sjell deri te degradimi i tyre [2,3]. Në disa raste, njollat e gjakut në dëshmi të ndryshme siç janë: rrobat, armët dhe dëshmitë e tjera fizike mund të lahen, të hedhen në ujë si dhe mund të jenë objekt i ekspozimit ndaj faktorëve të mjedisit siç është nxehtësia dhe dheu si ambient kontaminues [3, 6]. Identifikimi i gjakut në rroba të materialit të ndryshëm, mostra të frutave dhe perimeve është studiuar nga Nancy P dhe Nancy S [6]. Në punimin tonë është studiuar gjaku në rroba dhe sipërfaqe të substrateve të ndryshme, mostra gjaku të holluara nga 1:5 deri 1:10.000, mostra gjaku të ekspozuara ndaj faktorëve te ndryshëm të mjedisit si nxehtësia, lagështia, mikroorganizmat dhe kontaminantet tjerë dhe mostra të gjakut në rroba të ndryshme të cilat paraprakisht janë larë me ujë, sapun dhe 3% peroksid hidrogjeni [6].

Testi Kastle Meyer për herë të parë është përdorur rreth vitit 1926 [2]. Ai ka treguar të jetë shumë i ndjeshëm në praninë e hemoglobinës në

gjak. Ai mund të zbulojë praninë e hemoglobinës në mostrat e gjakut, të holluara deri 1:100,000 [2, 4]. Ky është hollim aq i madh sa ngjyra thuhet nuk duket fare. Ky test është aq specifik ndaj hemoglobinës sa që nuk reagon as në ndryshk, e cila është një formë e hekurit në të njëjtin gjendje (Fe^{+3}) si ajo e hekurit në një njollë gjaku [2].

REZULTATET

Mostrat e studiuara dhe rezultatet e testit janë paraqitur në mënyrë tabelare [3, 4, 6].

Hollimi	Gjak	Njollë e terur e gjakut
Gjak (Gj)	++++	++++
1:5 (100 ul Gj + 400 ul bufer)	++++	++++
1:10 (100 ul Gj + 900 ul PBS)	++++	++++
1:100 (100 ul 1:10 + 900 ul PBS)	+++	++
1:1000 (100 ul 1:100 + 900 ul PBS)	+	+
1:10,000 (100 ul 1:1000 + 900 PBS)	në gjurm	në gjurmë
Seria e hollimeve	Gjak	Njollë e terur e gjakut
Gjak (Gj)	++++	++++
1:2 (250 ul Gj + 250 ul of PBS)	++++	++++
1:4 (250 ul nga 1:2 + 250 ul PBS)	++++	++++
1:8 (250 ul nga 1:4 + 250 ul PBS)	++++	++++
1:16 (250 ul nga 1:8 + 250 ul PBS)	++++	++++
1:32 (250 ul nga 1:16 + 250 ul PBS)	++++	++++
1:64 (250 ul nga 1:32 + 250 ul PBS)	++++	++++
1:128 (250 ul nga 1:64 + 250 ul PBS)	+++	+++
1:256 (250 ul nga 1:128 + 250 ul PBS)	++	++
1:512 (250 ul nga 1:256 + 250 ul PBS)	+	+
1:1024 (250 ul nga 1:512 + 250 ul PBS)	+/-	në gjurmë

Tabela 3. Ndjeshmëria – Deri në çfarë shkalle të hollimit mostrat e gjakut mund të jenë akoma të detektueshme?

Sistemi i vlerësimit është përdorur si vijon: duke filluar nga rezultat i fortë pozitiv me ++++ deri te rezultati shumë i dobët pozitiv ku prania e gjakut është në gjurmë [6]:

4+ (++++) = Paraqitje e menjëhershme e ngjyrës së trëndafilut

3+ (+++) = Paraqitje e shpejt e ngjyrës së trëndafilut

2+ (++) = Reaksion i ngadalshëm i paraqitjes së ngjyrës së trëndafilut

1+ (+) = Reaksion i ngadalshëm ngjyrë e ndritshme e trëndafilut paraqitet brenda 5 sekondave

(+/-) = Reaksion i ngadalshëm ngjyrë e dobët e trëndafilut paraqitet brenda 5 sekondave

Në gjurmë = Reaksion i ngadalshëm ngjyrë e trëndafilut paraqitet në gjurmë brenda 5

sekondave

Negativ (-) = Nuk ka reaksion

Koha e reagjentëve	(+)	(-)
I freskët	(+)	(-)
Një ditë	(+)	(-)
Një javë	(+)	(-)
Një muaj	(+)	(-)
Gjashtë muaj	(+)	(-)
Një vit	(+)	(-)

Tabela 4. Qëndrueshmëria e reagjentëve - Sa gjatë mund të qëndrojnë reagjentët nëse ruhen në kushte të përshtatshme?

Mostrat e përziera nga dy apo më tepër lëngje trupore (tabela 1) testi KM ka qenë pozitiv në të gjitha mostrat ku ka qenë i pranishëm gjaku dhe negativ për lëngjet e tjera trupore. Në tabelën 2 testi KM është testuar për specifikitetin e tij ndaj gjakut dhe mostrave të frutave dhe perimeve të cilat përngjajnë si gjak. Nga rezultati i fituar shihet se testi KM jep rezultat pozitiv vetëm në mostra gjaku dhe është negativ për të gjitha mostrat tjera të frutave dhe perimeve. Rezultati i tabelës 3 paraqet ndjeshmërinë e këtij testi në mostra gjaku të holluara. Aty tregohet se testi KM detekton prezencën e gjakut deri në hollimin 1:10000 që vërteton mundësinë shumë të lartë detektuese të tij. Sa i përket qëndrueshmërisë së

reagjentëve që përdoren në këtë test (tabela 4), rezultatet tregojn se këto reagjente japin rezultat

pozitiv deri në një vit mbas datës së pregaditjës së tyre.

Mostra	Me fërkim	Me prerje	Mostra	Me fërkim	Me prerje
Pambuk (100%)	++++	++++	Negativ kontrolla	(-)	(-)
Mëndafsh	++++	++++	Gur	++++	
Nailon	++++	++++	Tullë	++++	
Lesh	++++	++++	Dru	++++	
Plastik	++++	++++	Hekur	++++	
Qilim	++++	++++	Thikë	++++	
Çarçaf	++++	++++	Çelik	++++	
Peshqir	++++	++++	Gjethe	++++	++++
Plish	++++	++++	Asfalt	++++	

Tabela 5. Llojet e materialit - Rroba dhe sipërfaqe të ndryshme depozituese

Mostra 1 deri 12 muaj të vjetra	Me fërkim	Me prerje	Mostra 1 deri 12 muaj të vjetra	Me fërkim	Me prerje
Pambuk (100%)	++++	++++	Negativ kontroll	(-)	(-)
Mëndafsh	++++	++++	Gur	++++	
Najlon	++++	++++	Tullë	++++	
Lesh	++++	++++	Dru	++++	
Plastik	++++	++++	Hekur	++++	
Qilim	++++	++++	Thikë	++++	
Çarçaf	++++	++++	Çelik	++++	
Peshqir	++++	++++	Gjethe	++++	++++
Plish	++++	++++	Asfalt	++++	

Tabela 6. Vjetërsia e mostrave - Më pak se një muaj deri në një vit të vjetra

Në tabelën 5 është analizuar gjaku i depozituar në rroba të ndryshme dhe substrate të ndryshme. Testi KM ka qënë pozitiv për të gjitha mostrat që tregojn gjithëashtu ndjeshmërinë e lartë të këtij testi edhe në rastet kur substrati ku është depozituar gjaku mund të jet nga më i ndryshmi. Edhe rezultatet pozitive të të gjitha mostrave të tabelës 6 tregojnë fuqinë e lartë detektuese të këtij testi në mostra gjaku të depozituara në rroba dhe substrate të ndryshme në kohëzgjatje prej një muaji deri në një vit të vjetra.

Ndërsa në tabelën 7 tregohet se testi KM ka dhënë rezultat pozitiv për të gjitha mostrat (substratet) ku ka qënë i depozituar gjaku të cilat paraprakisht janë pastruar me ujë, ka qënë pozitiv në disa mostra të pastruara me sapun dhe peroksid hidrogjeni 3%, pozitiv gjithëashtu në

mostra të gjakut të trajtuara me nxehtësi dhe mostra të gjakut nga ambienti i jashtëm të ekspozuara ndaj lagështisë, mikroorganizmave dhe kontaminantëve tjer prezent në dhe [1, 3, 4, 6]. Këto rezultate vërtetojnë gjithëashtu ndjeshmërinë e lartë të këtij testi në identifikimin e gjakut në mostra të ndryshme. Mostrat e gjakut të djegura me flakë, dhe mostrat e ndryshkut, kanë dhënë rezultate negative që na jep një argument tjetër se testi KM është shumë specifik [6].

Si përfundim testi Kastle-Meyer si test supozues për identifikimin e gjakut është test shumë specifik sepse reagon pozitivisht vetëm në mostrat që përmbajnë gjak, është i lehtë për tu përdorur dhe shumë i shpejt, rezultatet fitohen mbrenda 5 sekondave [2, 5, 6]. Është shumë i

ndjeshëm dhe mund të jep rezultat pozitiv në shumë të qëndrueshëm [1, 6].
hollim 1:10.000 dhe reagjentët e përdorur janë

Mostra: E larë me ujë	Me fërkim	Me prerje	Mostra: E larë me ujë dhe sapun	Me fërkim	Me prerje
Pambuk (100%)	+ / -	++++	Pambuk (100%)	trace	+++
Mëndafsh	++	++++	Mëndafsh	(-)	(-)
Najlon	+ / -	+++	Najlon	+	+++
Lesh	në gjurmë	++	Lesh	+	+++
Plastik	+	+++	Plastik	(-)	në gjurmë
Qilim	në gjurmë	+++	Qilim	(-)	në gjurmë
Çarçaf	+	++++	Çarçaf	(-)	+
Peshqir	+	+++	Peshqir	(-)	në gjurmë
Plish	+	++	Plish	(-)	(-)
Mostra: E larë me H₂O₂ 3%	Me fërkim	Me prerje	Mostra: E larë me ujë dhe zbardhues	Me fërkim	Me prerje
Pambuk (100%)	në gjurmë	++	Pambuk (100%)	në gjurmë	++
Mëndafsh	në gjurmë	në gjurmë	Mëndafsh	(-)	(-)
Najlon	në gjurmë	++	Najlon	në gjurmë	++
Lesh	(-)	në gjurmë	Lesh	(-)	++
Plastik	(-)	+	Plastik	(-)	në gjurmë
Qilim	(-)	+ / -	Qilim	+ / -	+
Çarçaf	në gjurmë	+	Çarçaf	(-)	(-)
Peshqir	(-)	në gjurmë	Peshqir	(-)	(-)
Plish	(-)	në gjurmë	Plish	(-)	në gjurmë
Mostra: E nxehur me hekurosje	Me fërkim	Me prerje	Mostra: E nxehur me flakë	Me fërkim	Me prerje
Pambuk (100%)	(-)	+	Pambuk (100%)	(-)	+ / -
Mëndafsh	në gjurmë	+	Mëndafsh	(-)	(-)
Najlon	+ / -	+	Najlon	(-)	(-)
Lesh	+ / -	+	Lesh	(-)	(-)
Plastik	në gjurmë	+	Plastik	(-)	(-)
Qilim	+ / -	+	Qilim	(-)	(-)
Çarçaf	+ / -	+	Çarçaf	(-)	(-)
Peshqir	+	++	Peshqir	(-)	(-)
Plish	+ / -	+	Plish	(-)	(-)

Tabela 7. Degradimi - Ekspozimi ndaj faktorëve të ambientit si: nxehtësia, larja dhe kontaminimi nga dheu

BIBLIOGRAFIA

1. Culliford BJ: The Examination and Type of Bloodstains in the Crime Laboratory, U.S. Dept. of Justice, pub I. 1971; p. 44-51.

2. Gaensslen RE: Sourcebook in Forensic Serology, Immunology and Biochemistry, U.S. Dept. of Justice, 1989; Section 6; p. 103-105.

3. Jain P& Singh HP: Detection and Origin of Blood Stain on Various Types of Clothes Immersed in Water for a Prolonged Period, Can, SOC, Forensic, SCl. J, Vol. 17, No, 2, April 1984; p 9-12.
4. Lee JB, Levy M & Walker A: Use of a Forensic Technique to Identify Blood Contamination of Emergency Department and Ambulance Trauma Equipment, Emerg. Med. J. 2006; 23; p. 73-75.
5. Lundquist F: Methods of Forensic Sciences, Interscience Publishers, Vol. 1, pub I, 1962; p. 254-255.
6. Peterson N & Stoud N: Internal validation for KM, 1979 – 1983; p.2-4.
7. President's DNA Initiative: DNA Analyst Training-Laboratory Training Manual User Guide, Protocols, 2006: Section 2.15, p 1-2.