

Цитович Т.Н., Долгова О.Б., Кондрашов Д.Л., Савина А.А.

Опыт и перспективы работы молекулярно-генетической лаборатории ГБУЗ Свердловской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы»

ГБУЗ СО «БСМЭ», Кафедра судебной медицины ГБОУ ВПО УГМА Минздравсоцразвития РФ, г.Екатеринбург

Tsitovich T.N., Dolgova O.B., Kondrashov D.L., Savina A.A.

The working experience and prospective planes of the molecular genetic laboratory of the state-financed healthcare of Sverdlovsk regional forensic bureau

Резюме

Представлен опыт работы молекулярно-генетической лаборатории бюро судебно-медицинской экспертизы Свердловской области; дана оценка деятельности лаборатории; определены некоторые перспективы работы

Ключевые слова: Молекулярно-генетическая лаборатория, идентификация личности, бюро судебно-медицинской экспертизы, оценка качества работы

Summary

The article presents the working experience of the molecular genetic laboratory of Sverdlovsk regional forensic bureau. Its activity is been assessed and some prospective planes are being considered.

Key words: molecular genetic laboratory, personal identification, forensic bureau, assessment

Введение

Начало работы по анализу хромосомной ДНК человека в целях судебно-экспертной идентификации личности было положено в 1985 г. в Лестерском университете Англии [1]. Опыт ученых по использованию «отпечатков пальцев» ДНК в декабре того же года внедрен в практическую деятельность Алдермастонским экспертно-криминалистическим центром МВД Великобритании [2]. На сегодняшний день типирование ДНК - наиболее доказательный метод анализа биологического материала при производстве судебно-медицинской идентификационной экспертизы. Вышесказанное определяет широкое использование технологий проведения указанного вида исследований экспертными службами большинства стран мира, в том числе Австралии, Австрии, Великобритании, Германии, Италии, Испании, Канады, США, Франции, Швейцарии, Японии и России.

В нашей стране первые исследования по геномной дактилоскопии выполнены в 1987 г. в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта АН СССР, в лаборатории академика Г.П. Георгиева. В декабре 1988 г. Институтом молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН и Бюро судебно-медицинской экспертизы Минздрава России представлены результаты первой в

СССР молекулярно-генетической экспертизы, которые стали основой следственного и, в последующем, судебного решения по обвинению в особо тяжких преступлениях убийцы-маньяка. В этот период при сотрудничестве с Институтом молекулярной биологии РАН на базе Бюро Главной судебно-медицинской экспертизы была организована первая в СССР экспертная лаборатория молекулярно-генетической идентификации [3]. В настоящее время судебно-медицинская молекулярно-генетическая экспертиза вещественных доказательств назначается по уголовным и гражданским делам, при расследовании которых возникает необходимость судебно-медицинского исследования вещественных доказательств для целей идентификации личности и установления биологического родства. Значение молекулярно-генетических идентификационных исследований возрастает как в России, так и во всем мире, в связи высоким уровнем криминогенности общества, а также с необходимостью идентификации личности пострадавших в случаях природных и техногенных катастроф с большим количеством человеческих жертв, возникающими локальными вооруженными конфликтами и террористическими актами. Лаборатории молекулярно-генетического профиля организованы в территориальных судебно-медицинских экспертных

учреждениях Министерства здравоохранения России, а также в системе МВД, ФСБ и Министерства обороны РФ.

В Свердловском областном бюро судебно-медицинской экспертизы работа по созданию молекулярно-генетической лаборатории проводилась в период 2005 - 2006 года, с 2007 года судебно-медицинские эксперты начали выполнять молекулярно-генетические исследования по постановлениям органов следствия и дознания. Стратегия руководства учреждения, направленная на достижение мировых стандартов качества судебно-медицинской генетической экспертизы, определила особенности кадровой политики. Условием приема на работу стало знание иностранных языков. Все врачи судебно-медицинские эксперты-генетики, наряду со специальной подготовкой на базе Российского центра судебно-медицинских экспертиз, в 2008 году прошли курс стажировки в зарубежных экспертных учреждениях: молекулярно-генетической лаборатории нейробиохимического института Брудника Университета штата Массачусетс, молекулярно-генетической лаборатории армии США (AFDIL) и в лаборатории Австрийского медицинского университета (г. Инсбрук) с получением сертификатов международного образца.

14 сентября 2008 года правительством Российской Федерации перед судебно-медицинской службой России была поставлена задача в кратчайший срок идентифицировать личности погибших в авиакатастрофе самолёта «Боинг-737» в г. Перми. Выполнение задачи возложено на молекулярно-генетическую лабораторию Свердловского областного бюро судебно-медицинской экспертизы. Подобного опыта работы с большим количеством объектов в максимально сжатые сроки не имела ни одна из лабораторий в Российской Федерации. Особенностью Пермской трагедии являлось не число погибших – 88 человек, а крайне сильная фрагментация тел – более 1400 фрагментов, что сделало невозможным опознание погибших родственниками. Количество неопознанных лиц составило 100%, и, следовательно, идентифицировать личности погибших можно было только молекулярно-генетическими методами. Таким образом, сложность выполнения исследований определяли следующие факторы: 1. выраженная фрагментация тел, значительно увеличивающая объём молекулярно-генетических исследований; 2. наличие среди погибших членов 4 семей (всего 18 человек), что требовало установления первоначально одного из членов семьи, а в дальнейшем - поиска и идентификации других родственников по уже установленному генотипу; 3. отсутствие опыта по прогнозированию влияния продуктов взрыва на ткани и пригодность тканей для выделения из них ДНК; 4. крайне сжатые сроки работы. На месте катастрофы изымались объекты для исследования, образцы крови родственников погибших первой степени родства (родители, дети), при отсутствии родственников первой степени родства - образцы у кровных родственников по отцовской или материнской линии в зависимости от пола погибших. Сотрудниками лаборатории ГБУЗ СО «БСМЭ» был составлен и направлен в г. Пермь перечень вопросов для родственников пострадавших, ответы на

которые позволили максимально полно отразить степень родства заявленных родственников. При организации работы по идентификации личности погибших важнейшее значение на первом этапе имела чёткая регистрация и сортировка объектов с учетом непрерывного потока поступающих образцов для исследования, в том числе ДНК-карт родственников погибших - граждан Италии, Франции и Германии. Значительно сократить время производства экспертизы позволило выделение ДНК из нативных тканей – мышечной, хрящевой, костной, кожи. Процесс производства экспертизы, с момента ее начала, шел непрерывно. С целью устранения загрязнений, вызывающих ингибицию ДНК, а также для уменьшения риска контаминации (загрязнения экзогенной ДНК) образцы для молекулярно-генетического исследования, по возможности, изымались из глубоких слоев фрагментов. Несмотря на проводимые мероприятия, в части объектов имелась ингибция, что требовало применения дополнительных способов «очистки» ДНК, и, соответственно, увеличивало сроки выполнения исследований. Во многих случаях применялся способ концентрации ДНК, либо проводилось повторное выделение ДНК из таких объектов, как хрящевая, костная ткань и волосы.

На первом этапе устанавливали генотипы всех представленных фрагментов с использованием наборов реагентов AmpF/STR® Identifier® PCR Amplification Kit фирмы Applied Biosystems (США). В составе набора - 15 систем анализа коротких tandemных повторов ДНК человека (STR): D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH 01, D13S317, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA и сегмент гена амелогенина, расположенного на X- и Y- хромосомах человека. Поиск совпадающих генотипов погибших граждан осуществлялся в автоматическом режиме в программе Microsoft Excel операционной компьютерной системы Microsoft® Windows® XP, что позволило сгруппировать полученные данные по генотипам. За 7 дней работы были установлены генотипы всех 88 погибших, среди них - 45 мужчин и 43 женщины. Все образцы тканей мужчин генотипированы по мужской ДНК. Для генетического типирования проб мужской ДНК использовался набор реагентов с пятью красителями для ПЦР-амплификации – AmpFISTR® Yfiler™ PCR Amplification Kit (Applied Biosystems, США). В составе набора AmpFISTR® Yfiler™ - тест-система для исследования коротких tandemных повторов (STR), позволяющая амплифицировать 17 локусов ДНК человека, специфичных для мужского пола в одной реакции ПЦР. Набор амплифицировал следующие локусы: DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385a/b, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA H4, DYS437, DYS438, DYS448. Используя генотипы заявленных родственников, был определен план работы по идентификации личности погибших в зависимости от классификации родственных групп (степени родства и числа родственников). Выделены полные родственные группы - мать, отец, а также неполные - мать или отец, сын, дочь, брат, сестра дядя, племянник по отцовской линии, бабушка, дедушка. Для идентификации

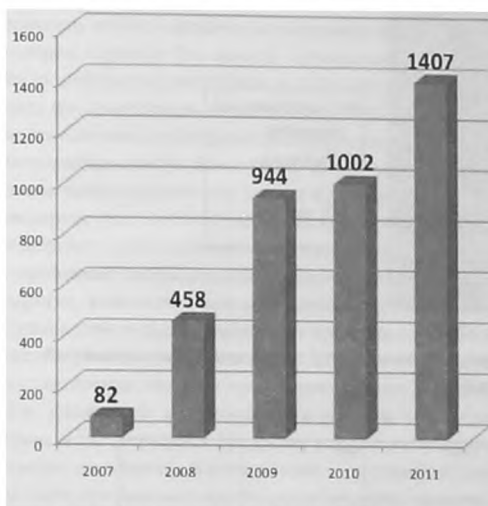


Рис.1. Динамика количества молекулярно-генетических экспертиз (2007-2011 гг.)

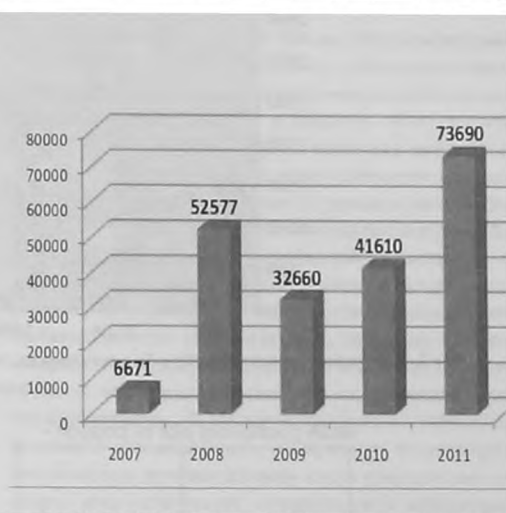


Рис.2. Динамика количественных показателей полученных условных генотипов (2007-2011 гг.)

4 семейных групп в количестве 18 человек использовался сравнительный материал от кровных родственников. Исследовалась аутосомная ДНК образцов всех заявленных родственников, в образцах ДНК родственников мужского пола дополнительно определялись гаплотипы мужской ДНК с целью установления кровного родства по отцовской линии. Поиск совпадающих генотипов и, соответственно, идентификация личности погибших граждан по генотипам заявленных родственников осуществлялся в автоматическом режиме программой Microsoft Excel в операционной системе Microsoft® Windows® XP.

Судебно-генетическая лаборатория Свердловского областного бюро судебно-медицинской экспертизы выполнила сложнейшую экспертную задачу на уровне мировых стандартов качества в кратчайшие сроки при отсутствии подобного опыта работы. Врачи судебно-медицинские эксперты молекулярно-генетической лаборатории получили бесценный опыт идентификации личности массового количества жертв техногенных катастроф.

В настоящее время молекулярно-генетическая лаборатория оснащена высокотехнологичным оборудованием и расходными материалами, дающими возможность проводить молекулярно-генетические экспертизы на высоком профессиональном уровне с использованием идентификационных наборов для исследования аутосомной, митохондриальной ДНК, установления родства по Y-хромосоме и X-хромосоме. В 2010 году получена лицензия Берлинского медицинского университета, дающая право участия в формировании международного банка данных the Y chromosome Haplotype Reference Database (YHRD). На настоящий момент лабораторией представлено 832 гаплотипа, что составляет более половины от всего объема данных по Российской Федерации.

Проанализированы показатели работы молекулярно-генетической лаборатории за период с 2007 г. по 2011 г. (Рис. 1,2). Ежегодно отмечается рост количественных по-

казателей производства экспертиз и исследований. При этом общее количество экспертиз не отражает истинный объем работы врача судебно-медицинского эксперта, поскольку каждая экспертиза представлена разным числом предметов, объектов, соответственно, количеством получаемых условных генотипов, а также спектром поставленных следователем или судом вопросов, определяющих как сложность экспертизы, так и время, затраченное на ее производство. Задачей заведующего судебно-биологическим отделением учреждения является решение вопросов целесообразности назначения экспертиз по предоставляемым объектам со следователями в ходе приема объектов на экспертизу, с руководителями следственных органов лично и на совместных заседаниях. Для работников следствия и дознания под руководством заведующей отделением составлены методические рекомендации по изъятию объектов и особенностям их транспортировки. Время проведения исследований удастся в некоторых случаях сократить путем обсуждения формулировки вопросов, предлагаемых врачу судебно-медицинскому эксперту в постановлении, а также корректировки количества направляемых на экспертизу объектов. Однако, несмотря на проводимые мероприятия, в 2011 г. объем выполненных экспертиз превысил показатели 2010 года на 40%. Это связано, во-первых, с большой доказательной силой экспертных выводов при раскрытии тяжких и особо тяжких преступлений против жизни и здоровья граждан, во-вторых, с требованием судебных органов в настоящее время принимать в качестве доказательств по делу результаты только комплексных (биологических и молекулярно-генетических) экспертиз, в третьих, с выполнением молекулярно-генетических исследований любого биологического материала, в том числе сложных для выделения ДНК объектов - гистологических препаратов.

Опыт работы аналогичных структурных подразделений бюро судебно-медицинской экспертизы субъектов

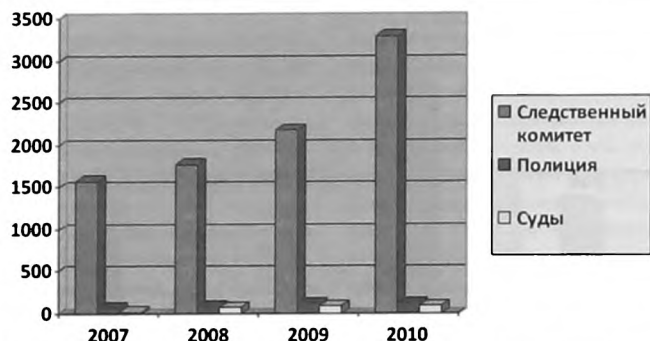
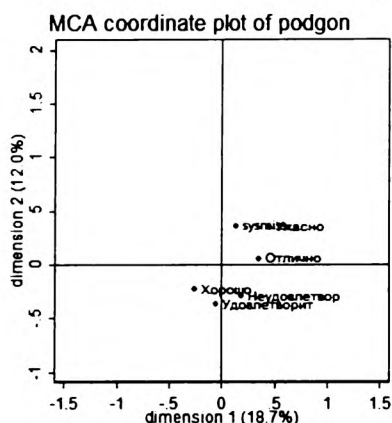


Рис.3. Востребованность судебно-биологических экспертиз по количеству выносимых постановлений (определений)



Ответ	Абс.	%
1	50	42.0
2	54	45.4
3	11	9.2
4	1	0.8
5	3	2.5

Рис.4. Оценка деятельности отдела сотрудниками следствия и суда по 5-балльной шкале

РФ в настоящее время в публикациях не представлен, что не позволяет провести сравнительный анализ деятельности молекулярно-генетических лабораторий учреждений регионов России.

С целью оценки качества экспертной деятельности, с учетом рекомендованных системой «ИСО» государственных стандартов системы менеджмента качества [4], а также мнения о проблемах взаимодействия для последующих предложений по принятию управленческих решений по оптимизации совместной работы следователей, судей и судебно-медицинской службы проведено исследование в форме интервьюирования основных потребителей продукции деятельности судебно-медицинской службы. Получено мнение судей районных судов г. Екатеринбурга, в том числе председателей судов, руководителей и следователей Следственного комитета г. Екатеринбурга, Следственного управления Следственного комитета на транспорте по Уральскому федеральному округу, руководителей структурных подразделений полиции г. Екатеринбурга, следователей и дознавателей 15-ти отделов полиции города – всего 337 респондентов [5].

Для интерпретации полученных данных использовалась методика статистического анализа при планировании, обработке и представлении результатов биомедицинских исследований SAS [6] и программа Stata 12; качественные признаки определялись в абсолютном ко-

личестве и доля в процентах от числа наблюдений; сравнение качественных признаков проводилось посредством критерия Фишера-Фримена-Холтера; многофакторный анализ выполнен с помощью анализа соответствий. Для всех статистических критериев ошибка первого рода устанавливалась равной 0,05. Нулевая гипотеза (отсутствие различий) отвергалась, если вероятность (p) не превышала ошибку первого рода.

В ходе исследования определены показатели востребованности судебно-биологических экспертиз по числу назначенных экспертиз и исследований, выявлен неуклонный рост количества выносимых постановлений следователями Следственного комитета Российской Федерации при стабильных количественных показателях полиции и суда (Рис.3).

Респонденты оценили работу судебно-биологического отделения по 5-балльной шкале в большинстве случаев на отлично и хорошо (Рис. 4).

Одним из отрицательных показателей качества работы судебно-медицинского эксперта является наличие случаев назначения повторных экспертиз после проведенных экспертом первичных, когда органы следствия и суда не удовлетворены экспертными выводами, вызывает сомнения объективность, обоснованность и аргументированность ответов на вопросы постановления. Следователям и судьям был задан вопрос о встречаемости в их

практике случаев назначения повторных экспертиз, где поводом служили бы выводы судмедэксперта-биолога. Было определено отсутствие у большинства опрошенных, как сотрудников следствия, так и судей необходимости назначения указанных экспертиз, или крайне редко возникающая необходимость, что свидетельствует о высоком профессиональном уровне судебно-медицинских экспертов судебно-биологического отделения. У тех респондентов, кто в своей практической работе столкнулся с проблемой необходимости назначения повторной экспертизы, выяснялись причины (поводы) их назначения. Судьи в равном крайне небольшом проценте случаев в качестве причин определили неполные ответы на вопросы постановления, наличие противоречий в самом экспертном заключении и противоречия выводов обстоятельствам дела; сотрудники следствия указали на неполноту ответов на вопросы постановления, и в равной степени на такие причины как противоречие выводов обстоятельствам дела, а также формальные поводы, т.е. неверно указанные фамилии экспертов, обвиняемых, пострадавших и др. лиц, отсутствие подписи в должном месте, указание неточного количества листов в заключении и т.д. Указанные поводы могут служить одним из критериев при оценке качества судебно-медицинской деятельности молекулярно-генетической лаборатории. Все респонденты исключили в качестве причины назначения повторной экспертизы недостаточную профессиональную компетентность врачей судебно-медицинских экспертов. Большинство респондентов отметили подтверждение выводов судебно-медицинского эксперта повторной комиссионной экспертизой (Рис.5), что также свидетельствует на сегодняшний день о высоком качестве работы экспертов.

Существующая проблема увеличения штата экспертов, на подготовку которых требуется время, должна решаться параллельно с развитием направления внедрения новых технологий. Это касается в первую очередь оснащения лаборатории автоматизированными станциями, предназначенными для выделения нуклеиновых кислот из широкого спектра биологических объектов, определения концентрации и качества ДНК, постановки реакции

амплификации в автономном режиме. Это позволит увеличить производительность работы лаборатории, сократить сроки производства экспертиз, максимально снизить возможность контаминации и повысить объективность оценки получаемых результатов, поскольку загрязнение материала посторонней ДНК может происходить на разных этапах работы, в том числе и в процессе изъятия вещественных доказательств работниками следствия (дознания) при несоблюдении правил забора материала. С другой стороны, влияние человеческого фактора фактора всегда следует учитывать при работе с объектами в лаборатории, особенно на этапе выделения ДНК, поскольку даже соблюдение всех требований при работе с объектами генетической экспертизы, направленных на минимизацию риска контаминации, не исключает такового на 100% [7,8]. В связи с вышесказанным, лаборатории молекулярно-генетического профиля должны иметь генетические паспорта всех работающих сотрудников. В лаборатории ГБУЗ СО «БСМЭ» на сегодняшний день имеется полный комплект документации генотипов штата сотрудников. В ряде случаев врачу судебно-медицинскому эксперту приходится работать с «проблемным» материалом – с той или иной степенью деградации ДНК от воздействия разрушающих факторов внешней среды. При малом количестве ДНК стоит задача установления истинного генотипа, что также требует максимальной автоматизации процесса для исключения попадания биологического материала лица, имеющего вторичный контакт с объектами.

При определении уровня ежегодных ассигнований на работу структурных подразделений бюро судебно-медицинской экспертизы в настоящее время принимается в расчет не фактическая потребность, а уровень финансирования, принятый в предыдущие годы, с учетом индексирования должностных окладов работникам бюджетной сферы [9]. Определяя объем финансирования для работы молекулярно-генетической лаборатории в нашем случае нельзя не учитывать уровень растущей потребности в проведении генетических исследований; разница между расходами бюджетных средств в 2009 и 2011 гг. составила 240%. В дальнейшем неизбежно потребует решения вопрос дополнительного финансирования, что должно

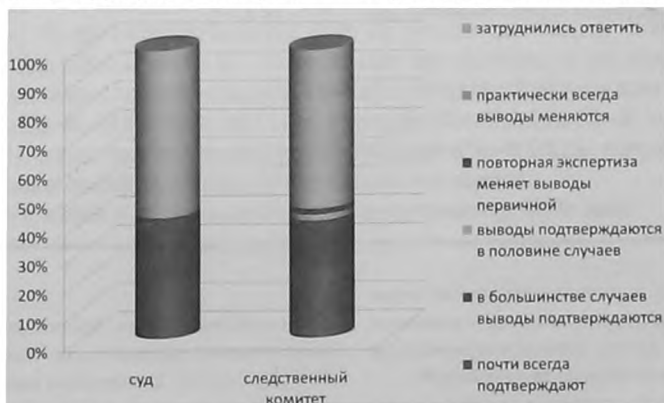


Рис. 5. Процент от общего числа респондентов, ответивших на вопрос о подтверждении выводов результатами повторных экспертиз

учитываться при формировании бюджета на уровне федерального органа управления судебно-медицинской службой РФ.

Выводы

Одним из важных оценочных критериев качества работы может служить мнение специалистов, являющихся потребителями продукта деятельности судебно-медицинской службы – судей, сотрудников следствия и дознания. Это позволит оперативно устранять недочеты в работе и приведет к уменьшению количества повторных экспертиз.

Судами, органами следствия и дознания дана высокая оценка работе биологического отделения ГБУЗ СО «БСМЭ», в том числе молекулярно-генетической лаборатории.

Постоянно растущая потребность в производстве молекулярно-генетических экспертиз, динамика показателей объема выполненной работы позволяют прогнозировать в дальнейшем значительное увеличение объема экспертиз и исследований.

Опыт работы молекулярно-генетической лаборатории бюро судебно-медицинской экспертизы Свердловской области по идентификации личности погибших при чрезвычайной ситуации может быть использован молекулярно-генетическими лабораториями

бюро судебно-медицинской экспертизы любого субъекта Российской Федерации

Для стабильного развития, расширения возможностей молекулярно-генетической лаборатории и сохранения статуса структурного подразделения учреждения здравоохранения на уровне мировых стандартов необходимы постоянный контакт и обмен опытом работы с зарубежными специалистами.

Полноценное решение вопросов финансового обеспечения производства генетических экспертиз и исследований не может на федеральном уровне осуществляться без учета особенностей работы конкретно взятого структурного подразделения бюро судебно-медицинской экспертизы. ■

Т.Н. Цитович, О.Б. Долгова, кандидат медицинских наук, доцент, Д.Л. Кондрашов, кандидат медицинских наук, А.А. Савина, Судебно-биологической отделение ГБУЗ Свердловской области «Бюро судебно-медицинской экспертизы», кафедра судебной медицины ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздрава России г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку – Долгова О.Б., 620102, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, 41, ГБУЗ СО «БСМЭ», эл. почта obdolgova@gmail.com

Литература:

1. Jeffreys A.J., Wilson V., Thein S.L. Individual-specific "fingerprints" of human DNA. *Nature*. – 1985. – V.316. – P.76
2. Gill P., Jeffreys A.J., Werrett D.J. Forensic application of DNA "Fingerprints". *Nature*. – 1985. – V.318. – P.577
3. Иванов П.Л. Индивидуализация человека и идентификация личности: молекулярная биология в судебной экспертизе. *Вестник Российской Академии Наук* - 2003г. - Том 73. - №12. - С.1085-1097.
4. ГОСТ Р ИСО 9000-2001 Государственный стандарт Российской Федерации.
5. Кондрашов Д.Л., Долгова О.Б., Соколова С.Л. Проблема востребованности судебно-биологических экспертиз (исследований) и оценка органами следствия и суда деятельности экспертов судебно-биологического отделения ГБУЗ Свердловской области «Бюро СМЭ». – 2011. – № 3-4. – С. 60-62.
6. Плавинский С.Л. Биостатистика: Планирование, обработка и представление результатов биомедицинских исследований при помощи системы SAS. – СПб: Издательский дом СПбМАПО, 2005. – 560 с.
7. www.interlabservice.ru/catalog/oborud/index.php?sid=1326&id=6853
8. www.qiagen.com/products/qiasymphonyssp.aspx
9. Колкутин В.В., Наумов Э.С., Ломов В.Е., Заславский Г.И. О состоянии бюджетного финансирования государственных судебно-медицинских экспертных учреждений Российской Федерации. *Судебно-медицинская экспертиза*. – 2011. – №6. – С. 46-51