

# کاربردهای آزمایش DNA در پزشکی قانونی

## «نمونه برداری و نگهداری نمونه‌ها»

ترجمه: دکتر حمیدرضا توانگر

سازمان پزشکی قانونی کشور

### خلاصه

مراحل اولیه بررسی شواهد عینی<sup>(۱)</sup> برای موفقیت در تحقیقات جنایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. پرونده‌های اخیر نشان می‌دهد که روشهای جمع‌آوری و نگهداری آثار در دادگاهها مورد تردید و بررسی موشکافانه قرار می‌گیرند. در این مقاله ضمن مرور بر کاربردهای تجزیه DNA در پزشکی قانونی، روشهای جمع‌آوری و نگهداری آثار بیولوژیک بررسی می‌شود. عناوین اصلی عبارتند از جمع‌آوری شواهد عینی در صحنه جرم، آزمایشگاه و تالار تشریح پزشکی قانونی. همچنین مسائل ویژه مربوط به منابع حاوی DNA و روشهای خاص جمع‌آوری نمونه از وسایل و مکانهای مختلف بررسی شده است.

کلیدواژه‌ها:

DNA Evidence - Collection - Preservation

۱- Physical Evidence

اگر در مراحل اولیه تحقیقات با آثار بجا مانده با بی احتیاطی برخورد شود، بازیابی پرونده مشکل خواهد بود.

### هشدارهای عمومی

هنگام جمع آوری هرگونه ماده بیولوژیک، موارد ایمنی مربوط به خون و دیگر مایعات بدن باید رعایت شود. از آنجا که پاتوژنهای خونی شایع تر شده اند، لازم است همه نمونه های بیولوژیک را بدون توجه به منبع، عفونی تلقی نماییم. جزئیات رعایت موارد ایمنی هنگام کار با مواد بیولوژیک و شیمیایی در بسیاری از مقالات بررسی شده است (۴-۸). رهنمودهای ایمنی زیر بایستی بطور کلی رعایت شوند: از تماس مستقیم با مواد بیولوژیک بپرهیزید، هنگام کار با نمونه های بیولوژیک از خوردن و آشامیدن خودداری و از دستکش و دیگر لوازم ایمنی استفاده نمایید.

در طی ۱۰ سال گذشته، روشهای مختلف تجزیه DNA با موفقیت قابل توجه و همچنین اختلاف نظر زیاد در علوم قانونی به کار گرفته شده است (۱-۳). اهمیت آزمایش DNA از قدرت افتراق و پایداری آن ناشی می شود. توانایی افتراق بین افراد با استفاده از شاخصهای ژنتیک در تحقیقات جنایی موفق، اهمیت بنیادی دارد. همین قدرت موجب بررسی موشکافانه آزمایش DNA در دادگاه شده است. اگرچه بیشتر دادگاهها متدولوژی پشتیبان آزمایش DNA را قبول دارند، برخی مخالفتها در این باره هنوز به قوت خود باقی است. در واقع، این مخالفتها مربوط به جمع آوری، نگهداری و نحوه انتقال شواهد بیولوژیک است نه اصل آزمایش - مسایلی که پیش پا افتاده به نظر می آیند. تحقیقات جنایی موفق نیاز به روشهای صحیح برای جمع آوری و نگهداری شواهد بیولوژیک دارد. مسؤول یکپارچگی شواهد، اولین مأمور تحقیق در صحنه جرم است. مسأله آلودگی نمونه هم در صحنه جرم، هم در آزمایشگاه مرتباً به بحث گذاشته می شود. هر چند در پرونده های قضایی مثل او.جی. سیمپسون<sup>(۱)</sup> چنین حقایقی مورد تأکید قرار گرفت، نکته تازه ای مطرح نگردید.

۱- O.J. Simpson

پرونده او.جی. سیمپسون از جنجالی ترین پرونده های دهه نود به حساب می آید که در آن سیمپسون - ورزشکار مشهور آمریکایی - متهم به قتل دو نفر شد. این پرونده از نخستین مواردی است که در آن از DNA استفاده شده بود و در نهایت متهم تبرئه شد.

از این مواد بسیار سخت است. حتی در اکثر موارد، میزان یا کیفیت نمونه‌هایی که در ابتدا ذکر شدند (۱۶) برای آزمایش DNA کافی نیست.

عوامل متعددی در موفقیت آزمایش DNA تأثیر می‌گذارند که نخستین آنها، مقدار نمونه است. حساسیت روشهای تجزیه DNA به ویژه آنها که بر پایه PCR انجام می‌شوند بسیار زیاد است (ولی بی‌نهایت نیست). دومین عامل، فاسد شدن نمونه است. بطور مثال حتی اگر لکه خون بزرگ باشد، آلودگی محیطی یا باکتریایی می‌تواند DNA را فاسد و غیر قابل استفاده نماید. شکل «۱» نمایانگر تأثیر وضعیت نگهداری نمونه در فساد DNA است. نمودار «۱» چگونگی تأثیر عوامل محیطی در بازیافت DNA انسانی از استخوان متراکم را نشان می‌دهد. همانگونه که میزان DNA به علت رشد باکتریها افزایش می‌یابد، شدت باند RFLP<sup>(۲)</sup> به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. سومین عامل، میزان خلوص نمونه است. بیشتر روشهای تجزیه DNA معتبر هستند ولی وجود گرد و خاک، چربی، رنگهای پارچه و دیگر آلاینده‌ها می‌تواند فرآیند تجزیه DNA را آسیب برساند (۹-۱۴).

انواع مختلفی از آثار صحنه جهت بررسی به آزمایشگاه پزشکی قانونی ارائه می‌شوند. نمونه مناسب برای آزمایش DNA، به استثنای آزمایش mt-DNA<sup>(۱)</sup>، محدود به مواد بیولوژیک حاوی سلولهای هسته‌دار است. موارد زیر گروهی از موادی هستند که DNA با موفقیت از آنها استخراج و تجزیه شده است.

- خون و لکه‌های خونی
- منی و لکه‌های منی
- بافت و اندام
- استخوان و دندان
- مو و ناخن
- بزاق، ادرار و دیگر مایعات بیولوژیک

جدول شماره «۱» میزان DNA قابل استخراج از نمونه‌های بیولوژیک را نشان می‌دهد. البته در عمل، نمونه‌هایی که از صحنه جرم جمع‌آوری می‌شوند، به میزان قابل توجهی کمتر DNA دارند. مواد بیولوژیکی مثل اشک، عرق، سرم و دیگر مایعات انسانی که سلول هسته‌دار کمتر دارند برای آزمایش DNA مناسب نیستند.

DNA از مواد دیگری مانند شیره معده و لکه‌های بجامانده از مدفوع نیز استخراج می‌شود ولی بدست آوردن میزان کافی DNA

۱- Mitochondrial DNA

۲- Restriction Length Fragment Polymorphism

میزان DNA	نوع نمونه
۲۰۰۰۰-۴۰۰۰۰ ng/ml	خون
۲۵۰-۵۰۰ ng	لکه یک سانتیمتر مربعی
۱۵۰۰۰۰-۳۰۰۰۰۰ ng/ml	منی
۱۰-۳۰۰۰ ng	نمونه مهبلگی پس از آمیزش مو (با ریشه)
۱-۷۵۰ ng/root *	موی کنده شده
۱-۱۲ ng/root	موی ریخته شده
۱۰۰۰-۱۰۰۰۰ ng/ml	بزاق
۱۰۰۰-۱۵۰۰ ng	سواب دهانی
۱-۲۰ ng/ml	ادرار
۳-۱۰ ng/mg	استخوان **

جدول ۱ - میزان DNA بدست آمده از نمونه‌های بیولوژیک

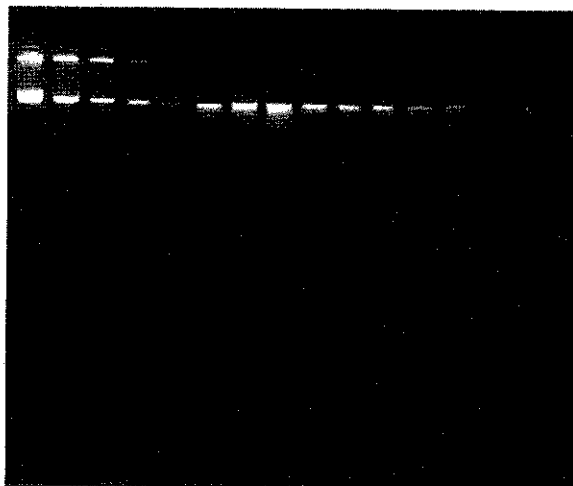
\* ریشه

\*\* بازده DNA با توجه به وضعیت استخوان تغییر زیادی می‌کند.

پس از جمع‌آوری بایستی در جای خشک و خنک نگهداری شده و در اسرع وقت به آزمایشگاه پزشکی قانونی تحویل داده شوند.

روشهای جمع‌آوری و نگهداری، تأثیر مهمی روی این سه مسأله دارند. بطور کلی مقدار نمونه باید در حد امکان زیاد باشد تا مطمئن شویم که میزان DNA کافی بدست می‌آید. در عین حال از جمع کردن گرد و خاک، چربی و دیگر ناخالصیها از محیط اطراف نمونه باید خودداری نماییم چرا که این آلاینده‌ها فرآیند تجزیه DNA را به ویژه در PCR با مشکل مواجه می‌سازند. نمونه‌ها

مجله علمی پزشکی قانونی / سال چهارم / شماره پانزدهم



شکل ۱ - فاسد شدن نمونه در اثر گذشت زمان. مقداری خون تازه در ویالهای استاندارد حاوی هپارین تهیه و به بخشهای مساوی صد میکرولیتری تقسیم شد. این نمونه‌ها پیش از انجام آزمایش DNA به مدت صفر تا ۱۴ روز در دمای اتاق یا ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. از چپ به راست: ستونهای ۱ تا ۵، نمونه‌های استاندارد (به ترتیب ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ نانوگرمی)؛ ستون ۶، کنترل؛ ستونهای ۷ و ۸ به ترتیب ۱ روز در دمای اتاق و دمای ۳۷ درجه؛ ستونهای ۹ تا ۱۶ به ترتیب ۳، ۵، ۷ و ۱۴ روز در دمای اتاق و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شده‌اند.



نمودار ۱ - بازیابی DNA از استخوانهای متراکمی که برای مدت ۰ تا ۴ هفته در تابستان روی زمین و در معرض عوامل محیطی قرار گرفتند. ستونهای توپر نشان‌دهنده شدت باند RFLP و ستونهای توخالی نشانگر مقدار کل DNA استخراجی (انسانی + میکروبی) است. میزان کاهش شدت باند RFLP به شرایط محیطی بستگی زیادی دارد نمونه نتایج را در اینجا مشاهده می‌نمایید.

مجله علمی پزشکی قانونی / سال چهارم / شماره پانزدهم

## روشهای انتقال شواهد

● DNA شاهد عینی روی یک شیء یا در یک محل

## جابجایی ثانویه

خون، منی، نسج، مو، بزاق یا ادرار ممکن است به وسیله یک واسطه به قربانی، متهم، شاهد، شیء یا یک محل انتقال یابد. در انتقال ثانویه، هیچ ارتباط مستقیمی بین منبع اصلی (صاحب DNA) و محل یافتن نمونه وجود ندارد. برای مثال، لباس یک قربانی تجاوز جنسی که آغشته به منی است ممکن است به صندلی اتومبیل کشیده شود. مایع منی هم ممکن است متعاقباً به شخص دومی که در همان وسیله نقلیه می‌نشیند منتقل شود. مثال دیگر از انتقال ثانویه آن است که شخص موی سر قربانی را ناخواسته از اتومبیل متهم به اتومبیل دیگری منتقل کند. واسطه انتقال می‌تواند یک شخص یا یک شیء باشد. انتقال ثانویه شواهد عینی ممکن است رابطه‌ای بین یک فرد و یک جرم مشخص ایجاد کند، هر چند که همیشه هم چنین نیست.

## نمونه‌برداری و نگهداری از شواهد بیولوژیک

انجام موفقیت‌آمیز آزمایش DNA از شواهد بیولوژیک بدست آمده از صحنه جرم بستگی زیادی به نوع نمونه جمع‌آوری شده و روشهای نگهداری از آن دارد.

شش نوع مختلف از آثار بیولوژیک که قبلاً ذکر شد می‌توانند برای ایجاد یا قطع ارتباط یک فرد با یک جرم استفاده شوند. با کمک DNA می‌توان یک فرد را به یک فرد دیگر یا به یک شیء یا به یک محل ارتباط داد؛ حتی می‌توان مشخص کرد صحنه جرم اولیه است یا ثانویه. بطور کلی شواهد بیولوژیک به دو روش انتقال می‌یابند: مستقیم و غیرمستقیم (ثانویه).

## انتقال مستقیم

خون، منی، نسج، استخوان، مو، ادرار و بزاق می‌توانند مستقیماً روی بدن یا لباس فرد، روی یک شیء یا صحنه جرم قرار بگیرند. هنگامی که مواد بیولوژیک مایع در جایی ریخته شوند، با چسبیدن به آن سطح تبدیل به لکه می‌شوند. شواهد بیولوژیک غیرمایع مانند: نسج، استخوان و مو هم به روش مستقیم منتقل می‌شوند. انتقال مستقیم ممکن است در نتیجه یکی از حالت‌های زیر رخ دهد:

- DNA متهم روی بدن یا لباس فرد
- DNA متهم روی یک شیء یا در یک محل
- DNA قربانی روی بدن یا لباس یک فرد
- DNA قربانی روی یک شیء یا در یک محل
- DNA شاهد عینی روی بدن قربانی یا متهم

گردد. تا زمانیکه وضعیت اصلی و دیگر اطلاعات مربوط به نمونه ثبت نشده باشد، نباید هیچ آزمایشی روی نمونه انجام داد. روشهای مختلفی برای ثبت وجود دارد و پیشنهاد می‌گردد بیش از یک روش بکار رود.

### شواهد عینی در صحنه جرم

- ۱- پیش از جابجایی، نمونه برداری یا دست زدن به شواهد از آنها عکس بگیرید.
- ۲- از شواهد و موقعیت آنها نسبت به صحنه جرم فیلمبرداری کنید.
- ۳- محل و وضعیت شواهد را ثبت نمایید.
- ۴- ارتباط فضایی شواهد را نسبت به دیگر اشیاء در صحنه جرم ثبت و طراحی کنید.
- ۵- بسته‌بندی شواهد را مهر و موم و برچسب‌گذاری نمایید.

### شواهد عینی در آزمایشگاه پزشکی قانونی

- ۱- وضعیت مهر و موم، برچسب و بسته‌بندی نمونه را یادداشت نمایید.
- ۲- برچسبی حاوی امضای نمونه بردار، شماره پرونده و تاریخ روی بسته نصب نمایید.
- ۳- شماره بسته را کنترل نموده و آن را با فرم تحویل مقایسه نمایید تا مطمئن شوید که بسته درست تحویل شده باشد. همچنین مطمئن شوید که توصیف نمونه درست

بنابراین، روش مورد استفاده در نمونه‌برداری، ثبت نوع و میزان نمونه‌ها، نحوه جابجایی و کار با آنها، بسته‌بندی و نگهداری نمونه‌ها از عوامل مهم در موفقیت آزمایش DNA می‌باشند. اگر نمونه‌ها بخوبی جمع‌آوری، بسته‌بندی، نگهداری و ثبت نشده باشند، در دادگاه پذیرفته نمی‌شوند. اگر DNA پیش از جمع‌آوری ثبت نشود، منبع آن مورد شک و سؤال قرار می‌گیرد و اگر بخوبی جمع‌آوری و نگهداری نشود ممکن است آلوده و در پایان فاسد شود. اگر چه این مسایل نمونه A را به B تبدیل نمی‌کند، در نتیجه آزمایش DNA یا پذیرش در دادگاه تأثیر می‌گذارد. با توجه به حساسیت روشهای تجزیه DNA، لازم است که همه وسایل مورد استفاده برای نمونه‌برداری کاملاً تمیز باشند.

نکات کلی زیر جهت ثبت، نمونه‌برداری، بسته‌بندی و جابجایی شواهد حاوی DNA پیشنهاد می‌گردند.

### ثبت کردن شواهد DNA

نخستین مرحله بررسی شواهد عینی، ثبت شواهد در صحنه جرم، تالار تشریح یا آزمایشگاه پزشکی قانونی است. در هر تحقیق جنایی یا کیفری، ثبت کردن هم از بعد علمی و هم از بعد قانونی اهمیت دارد و هر نمونه‌ای که بدست می‌آید باید کاملاً ثبت

است.

لباسها را با دقت جمع آوری کنید.  
۸- شواهد را تحت شرایط خاص واگذار  
نمایید.

۴- از محتویات بسته یادداشت، طراحی و  
عکس تهیه نمایید.

هنگامیکه شواهد بیولوژیک بصورت  
مستقیم یا غیرمستقیم انتقال یافت، در محل  
نهایی جذب شده یا به سطح آن می چسبند.  
بطور کلی، شواهد بیولوژیک مایع جذب شده  
در حالیکه شواهد بیولوژیک غیرمایع به  
سطح می چسبند. روش نمونه برداری بستگی  
فراوانی به حالت و موقعیت شواهد  
بیولوژیک دارد. در رابطه با نمونه برداری از  
شواهد بیولوژیک موارد زیر پیشنهاد  
می گردد.

۵- پیش از نمونه برداری، محل و وضعیت  
شواهد بیولوژیک را ثبت نمایید. تاریخ و  
زمان برشهای ثانویه و ناحیه ای که برشها از  
آنجا برداشته شده را یادداشت نمایید.  
۶- اگر آزمایشهای اولیه انجام شده، نوع  
آزمایش و نتایج بدست آمده را ثبت نمایید.  
هنگام کار با شواهد، همیشه دستکش های  
یکبار مصرف تمیز بپوشید تا از آلودگی  
احتمالی جلوگیری شود.

### شواهد عینی در تالار تشریح

### خون و لکه های خونی

۱- پیش از تمیز کردن جسد، از جسد و  
هرگونه آثار دیگر عکسبرداری نمایید.

### نمونه گیری از انسان

۲- شواهد را توصیف و طراحی نمایید.  
۳- هر نمونه را با استفاده از وسایل تمیز  
جمع آوری کنید.

● خونگیری باید توسط پرسنل پزشکی  
مغرب انجام شود.

۴- هر نمونه را در ظرف مناسب بصورت  
جداگانه بسته بندی کنید.

● حداقل ۵ سی سی خون باید در لوله های خلأ  
حاوی EDTA - به عنوان ضد انعقاد -

۵- هر ظرف را برچسب زده و تعداد نمونه ها  
را یادداشت نمایید. هیچ ماده  
نگهدارنده ای مثل فرمالدئید به نمونه ها اضافه  
نکنید.

جمع آوری شود. EDTA بهترین ماده  
ضد انعقاد برای آزمایش DNA است. برای

۶- از نمونه ها بخوبی نگهداری کنید.

آزمایشهای دیگر مثل آزمایشهای  
سروولوژیک، مواد مخدر و الکل باید نمونه ای

۷- برای جلوگیری از آلودگی نمونه های  
بیولوژیک و از دست دادن شواهد جزیی

جداگانه تهیه شود. نمونه های خون برای  
آزمایشهای معمول سروولوژی بدون ماده  
نگهدارنده و نمونه های خون برای

مجله علمی پزشکی قانونی / سال چهارم / شماره پانزدهم



- لکه یا لخته خون را می‌توان با یک تکه پنبه تمیز برداشت. لکه‌هایی را که صرفاً سرم هستند نباید برداشت. بهتر است نمونه قبل از بسته‌بندی و تحویل به آزمایشگاه در هوای آزاد و به دور از نور خورشید خشک شود.
- شماره پرونده، شماره نمونه، تاریخ، زمان، مکان و امضای گیرنده نمونه باید روی برچسب نوشته و به نمونه الصاق شود.
- نمونه‌های خون مایع باید در مواد ضدانعقاد مناسب (EDTA برای DNA) و در جای خنک نگهداری و در اسرع وقت به آزمایشگاه تحویل شود.

### نمونه خون مایع در برف، یخ یا آب

- از نمونه‌های خونی که روی برف یا در آب پیدا می‌شوند باید سریعاً نمونه‌برداری کرد تا از رقیق‌تر شدن آنها جلوگیری شود.
- غلیظ‌ترین و بیشترین میزان ممکن از خون را باید به ظرف مناسب و تمیز منتقل و تا حد امکان در مورد آلاینده‌ها مراقبت نمود.
- همانگونه که قبلاً توضیح داده شد، نمونه‌ها برچسب‌گذاری شوند.
- در صورت امکان، نمونه‌ها منجمد شود.
- نمونه‌ها در اسرع وقت به آزمایشگاه تحویل داده شود.

آزمایشهای الکل و مواد مخدر باید حاوی فلوراید سدیم (NaF) باشد.

- تاریخ، زمان، مکان، نام آزمایش شونده، نام گیرنده نمونه، حجم نمونه، شماره پرونده و شماره نمونه روی برچسبی نوشته و روی لوله آزمایش چسبانده شود.
- نمونه‌های خونی باید در جای خنک نگهداری و در اسرع وقت به آزمایشگاه تحویل داده شود. جهت آزمایشهای سرولوژی، خون باید منجمد باشد. اگر نمونه‌ها پست می‌شود حتماً بصورت سفارشی باشد. هرگز از یخ خشک برای خنک کردن لوله‌های آزمایش استفاده نکنید.

### نمونه خون مایع در صحنه جرم

- خون مایع باید با یک سرنگ تمیز - ترجیحاً استریل - یا پیپت یک بار مصرف جمع‌آوری شده و به یک لوله آزمایش تمیز - ترجیحاً استریل - منتقل شود. هیچ مایعی را نباید با مکیدن از طریق پیپت جمع‌آوری کرد.
- لخته خون را می‌توان با استفاده از یک کاردک یا اسپاچولای تمیز به لوله آزمایش منتقل کرد. بعد از هر نمونه‌گیری باید لوازم را به وسیله آب ژاول ۱۰ درصد و الکل کاملاً شست.
- با توجه به اینکه آب ژاول DNA را از بین می‌برد، قبل از نمونه‌برداری باید وسایل عاری از آب ژاول باشد.

**لباس با لکه‌های خون تازه**

لباس حاوی لکه‌های خون تازه باید در یک جای تمیز قرار گیرد و در هوای آزاد (نه با نور خورشید) خشک شود. برای تسریع خشک شدن، از وسایل گرمایزا (مثل سشوار) استفاده نکنید.

لباسهای خیس یا لباسهایی که لکه خون تازه دارند هرگز نباید در ظروف کاملاً بسته و غیرقابل نفوذ بسته‌بندی شوند، چرا که این عمل منجر به باقی ماندن رطوبت و افزایش رشد باکتریها و در نتیجه فساد نمونه می‌شود.

هنگامیکه لباس یا لکه‌ها خشک شدند، باید آنها را در کاغذ یا بسته‌های کاغذی تمیز بسته‌بندی نمود و برچسب زد. نمونه‌ها را پیش از تحویل به آزمایشگاه در جای خشک (و در حد امکان خنک) نگه دارید.

جابجایی بیش از اندازه لباس موجب جابجایی و جدا شدن بعضی از لخته‌های خون می‌شود و باید از این مسأله جلوگیری کرد.

**اشیاء آغشته به خون تازه**

اشیاء کوچک آغشته به لکه‌های خون تازه باید در هوای آزاد خشک شده و به همان صورت بسته‌بندی شوند.

بایستی شکل و یکپارچگی لکه‌های خون را هنگام بسته‌بندی و جابجایی حفظ کرد.

● لکه‌های خون تازه روی اشیاء بزرگ غیرقابل حمل را می‌توان توسط یک قطعه پنبه تمیز برداشت.

● پنبه آغشته به خون پیش از بسته‌بندی در ظروف کاغذی، باید در هوای آزاد خشک شود.

● هر نمونه باید جداگانه بسته‌بندی شده و برچسب حاوی اطلاعات به آن چسبانده شود.

**لکه‌های خون خشک شده روی اشیای قابل حمل**

● لکه‌های خون روی سلاح، لباس و دیگر اشیاء قابل حمل باید بصورت جداگانه جمع‌آوری شوند.

● هر شیء باید در ظرف مخصوص و مناسب قرار گرفته و مهر و موم و برچسب‌گذاری شود.

● لکه‌های خون خشک شده روی اشیاء بزرگ و غیرقابل حمل مثل دیوار

● شکل لکه‌های خون باید ثبت، عکسبرداری و طراحی شود.

● لکه‌های خون را می‌توان از شیء جدا کرد و روی کاغذ تمیز قرار داد. روش دیگر این است که مقدار کمی آب مقطر به دفعات روی لکه‌ها ریخته و سپس محلول بدست آمده را با پیپت به لوله آزمایش تمیز منتقل نمود.

همراه لکه جلوگیری نمود.

- در سطوحی که برجستگی و فرورفتگی‌های ظریف دارند، می‌توان با ریختن کمی آب مقطر به دفعات نمونه را جمع‌آوری و به لوله آزمایش منتقل نمود.
- هر نمونه باید برچسب‌گذاری شود.

لکه‌های خون روی خودروهایی که از صحنه تصادف گریخته‌اند

- سطح خارجی وسیله نقلیه باید از نظر وجود آثار ضربه، پارچه، رنگ، مو، نسج، فیبر، خون و دیگر شواهد جزیی بررسی و هرگونه یافته‌ای بخوبی ثبت شود.
- سطح زیرین خودرو هم باید از نظر وجود نسج، مو، خون، فیبر و دیگر موارد بررسی شود.
- همه اثرات و نقشه‌های بجا مانده در خودرو باید عکسبرداری شود.
- همه شواهد جزیی باید جمع‌آوری و به خوبی بسته‌بندی شود.
- لکه‌های خون در سطح رنگ شده باید به وسیله یک شیء تیز (مثل اسکالپل، اسکنه یا پیچ‌گوشتی) برداشته شوند. نمونه رنگ بدست آمده را می‌توان تجزیه و با نمونه‌های رنگ پیدا شده روی قربانی مقایسه نمود. اگر نمونه رنگ لازم نباشد، می‌توان لکه خون را توسط اسکالپل تمیز تراشید و در کاغذ بسته‌بندی کرد.

سواب پنبه‌ای باید ابتدا در هوای آزاد خشک شده و سپس در کاغذ پیچیده شود. کاغذ مذکور را در یک پاکت قرار داده و پس از مهر و موم برچسب بزنید.

- می‌توان بخشی از شیء را که لکه‌ای ندارد بعنوان شاهد تحویل آزمایشگاه داد. از آنجا که ممکن است مقدار کمی DNA روی این قسمت هم وجود داشته باشد، در واقع کنترل اصلی آزمایش DNA نبوده و خود یک نوع نمونه به حساب می‌آید.

لکه‌های خون خشک شده روی اشیائی که می‌توانند بریده شوند، مثل فرش یا پارچه مبلمان

- همانگونه که قبلاً اشاره شد، محل لکه‌ها باید ثبت شود. قسمتی از شیء که حاوی لکه‌های خون است بایستی توسط یک وسیله تیز و تمیز بریده شود.
- هر قسمت بریده شده باید جداگانه بسته‌بندی و برچسب‌گذاری شود.

لکه‌های کوچک خون خشک شده

- لکه‌های کوچک خون خشک شده، اغلب به سختی از سطح شیء جدا می‌شوند. پس از ثبت دقیق، می‌توان با استفاده از چسب نواری یا سواب پنبه‌ای مرطوب، لکه‌ها را از سطح شیء برداشت. در ضمن بایستی از جمع‌آوری گردوغبار و آلاینده‌های دیگر به

زیاد خودداری نمود تا از مخلوط شدن نمونه با خون یا بافت جسد جلوگیری شود. هر ناخن و خلال دندان مربوطه را باید جداگانه بسته‌بندی کرد.

### منی و لکه‌های منی

#### منی مایع در صحنه جرم

● لکه‌های منی باید بوسیله عکس، فیلم ویدیوئی یا طراحی ثبت شود.

● منی مایع باید بوسیله یک سرنگ یا پیپت یکبار مصرف تمیز برداشته و به لوله

آزمایش تمیز منتقل شود. در صورت عدم دسترسی به وسایل یکبار مصرف، پس از

هر بار استفاده وسایل را با آب ژاول ۱۰ درصد و الکل بشویید.

● هر بسته همانگونه که قبلاً توضیح داده شده برچسب‌گذاری شود.

● نمونه‌ها در جای خنک نگهداری و در اسرع وقت به آزمایشگاه تحویل داده شود.

● همچنین می‌توان منی مایع را توسط یک سوآب پنبه‌ای جذب و در هوای آزاد خشک

کرد و سپس بسته‌بندی، مهر و موم و برچسب‌گذاری و در صورت امکان در جای

خنک نگهداری نمود.

● همانگونه که اشاره شد اگر تراشیدن لکه‌ها رضایت بخش نیست، می‌توان آنها را با سوآب پنبه‌ای مرطوب برداشت. در این صورت، سوآب باید در هوای آزاد خشک شود.

● مطابق معمول، هر مورد باید مهر و موم و برچسب‌گذاری شود.

● نمونه‌ها باید قبل از استفاده از روشهایی که اثر انگشت مخفی را آشکار می‌سازد

جمع‌آوری شوند؛ البته روشهای غیرمخرب مثل لیزر و منابع نوری آلترناتیو<sup>(۱)</sup> استثناء

هستند.

#### لکه‌های خون روی بدن

● لکه‌های خون روی بدن باید قبل از نمونه‌برداری کاملاً ثبت شوند.

● محل، اندازه، تعداد، شکل و الگوی قرارگیری لکه‌ها باید ثبت شود.

● در صورت امکان، لکه‌های خون قبل از انتقال جسد از صحنه جرم، برداشته شوند.

● برای کاهش برداشت سلولها از بدن، لکه‌ها باید با ملایمت هرچه تمامتر برداشته شوند.

● برای این منظور، می‌توان از یک چسب نواری یا سوآب پنبه‌ای استفاده نمود.

● لکه‌های خون زیر ناخن باید با یک خلال دندان تمیز برداشته شود. ناخن‌ها هم باید با

یک ناخن‌گیر تمیز گرفته و جمع‌آوری شوند. هنگام گرفتن ناخن‌ها باید از وارد کردن فشار

1- Alternative

برچسب‌گذاری شود.

● نمونه‌ها باید در جای خنک نگهداری شود.

### لکه‌های منی روی سطوح غیرقابل جذب و غیرقابل حمل

● نمونه‌هایی از این سطوح عبارتند از: کف

ساختمان، پیشخوان مغازه و سطوح فلزی.

● لکه‌های منی باید همانگونه که قبلاً شرح داده شد ثبت شوند.

● لکه‌های منی را می‌توان با کمک اسکالپل،

چسب نواری یا سوآب پنبه‌ای جدا و روی کاغذ تمیزی منتقل نمود.

● اسکالپل باید پس از هر نمونه‌برداری کاملاً تمیز شود.

● هر بسته باید در ظرف مخصوص خود قرار گیرد.

● هر بسته باید به خوبی مهروموم و برچسب‌گذاری شود.

● هر بسته باید در جای خنک نگهداری شود.

### نمونه منی از قربانیان تجاوز جنسی

● قربانیان تجاوز جنسی در اورژانس بیمارستانها، مراکز ویژه بررسی تجاوز به

عنف یا مطب پزشک معاینه می‌شوند.

● شواهد عینی (مثل لباس) باید همانگونه که قبلاً توضیح داده شد جمع‌آوری شوند.

● یک کیت استاندارد تجاوز جنسی باید برای نمونه‌برداری از دهان، مقعد و مهبل استفاده

### لکه‌های منی روی وسایل قابل حمل

● شورت، لباس، روتختی، بالش و دیگر اشیاء قابل حمل دارای لکه‌های منی را باید «همانگونه که هست» جمع‌آوری کرد.

● لکه‌های خیس باید در هوای آزاد خشک و سپس بسته‌بندی شود.

● هر نمونه باید در یک بسته کاغذی جداگانه بسته‌بندی شود.

● بسته‌بندی باید کاملاً مهروموم و برچسب‌گذاری شود.

● بسته‌ها باید در صورت امکان در جای خنک نگهداری و در اسرع وقت تحویل

آزمایشگاه شود.

### لکه‌های منی روی اشیاء بزرگی که قابل بردن هستند

● فرش، لحاف، تشک و مبلمان از جمله این اشیاء هستند.

● همانگونه که قبلاً توضیح داده شد، نمونه باید ثبت شود.

● منطقه آلوده به لکه‌های منی را با اسکالپل تمیز به کاغذ تمیز منتقل نموده و کاغذ را

بصورت پاکت درآورید.

● پس از هر نمونه‌برداری، اسکالپل را با الکل و آب ژاول به خوبی تمیز نمائید.

● هر نمونه را در یک بسته‌بندی جداگانه قرار دهید.

● هر بسته باید جداگانه مهروموم و

شود. مراحل نمونه برداری مطابق آنچه در راهنمای کیت نوشته شده باید رعایت شود.

- هر بسته باید بسته بندی، مهر و موم و برچسب گذاری شود. کیت و تمام نمونه ها را باید در جای خنک نگهداری کرد.
- نمونه ها باید در اسرع وقت به آزمایشگاه تحویل داده شوند.

### بافت، اندام و استخوان

- هر نمونه باید همانگونه که ذکر شد بوسیله عکسبرداری، طراحی و فیلمبرداری ثبت و توصیف شود.
- هر نمونه باید در یک ظرف تمیز بدون فیکساتور قرار گیرد.

- هر ظرف باید به خوبی مهر و موم و برچسب گذاری و در جای سرد نگهداری شود.
- بهترین نوع فریزر برای نگهداری DNA فریزر بدون دیفراسست اتوماتیک است. نمونه ها باید در اسرع وقت تحویل آزمایشگاه شود.

### بافت، اندام یا استخوان کهنه

- هر نمونه باید پیش از جمع آوری، عکسبرداری و طراحی شود. اندازه، شکل، الگو، ارتباط فضایی با اجزای دیگر صحنه

باید بطور صحیح ثبت شود.

- هر مورد را باید با یک فورسپس تمیز برداشت. قطعاتی که به هم چسبیده اند باید یکجا جمع شوند.
- باید دقت کافی شود تا قطعات با هم تماسی نداشته باشند تا از آلودگی آنها جلوگیری شود.

- هر مورد را باید در یک ظرف تمیز جداگانه قرار داد و سپس مهر و موم و برچسب گذاری نمود.

- نمونه ها باید در صورت امکان در جای خنک نگهداری و در اسرع وقت تحویل آزمایشگاه شود.

### ادرار، بزاق و دیگر مایعات

#### نمونه های مایع

- ادرار یا بزاق مایع بایستی در اسرع وقت به یک ظرف استریل و تمیز انتقال یابد.
- هر ظرف باید مهر و موم و برچسب گذاری شود.
- نمونه را باید در جای خنک نگهداری کرد و در اسرع وقت به آزمایشگاه تحویل داد.

#### لکه ها

- لکه های ادرار، بزاق و دیگر مایعات باید همانگونه که هستند یا به همراه سطحی که بر روی آن قرار گرفته اند جمع آوری شوند.

## بروزی نمونه‌ها در آزمایشگاه

### دریافت شواهد در آزمایشگاه

هنگامی که نمونه‌ها جمع‌آوری و به آزمایشگاه پزشکی قانونی تحویل داده شد، کارکنان آزمایشگاه باید موارد پیشنهادی زیر را برای پردازش نمونه جهت آزمایش DNA رعایت نمایند:

۱- نمونه باید همراه یک نامه توضیحی شامل مشخصات نمونه و هدف از انجام آزمایش درخواستی به آزمایشگاه تحویل داده شود.

۲- همه نمونه‌ها باید مطابق روشهای استاندارد آزمایشگاه دریافت و ثبت گردد و به هر مورد یک شماره پرونده اختصاص داده شود.

۳- مشخصات شواهد عینی باید با برگه مشخصات نمونه‌ها مطابقت داده شده و هرگونه اختلافی یادداشت و تصحیح شود.

۴- هر بسته باید به خوبی بسته‌بندی، مهروموم و برچسب‌گذاری شود. هر نشانه‌ای از بسته‌بندی، مهروموم یا برچسب‌گذاری نامناسب باید یادداشت شود.

۵- هر نشانه‌ای از نشئت یا آلودگی بسته‌ها باید یادداشت شود.

۶- هرگونه درخواست یا دستورالعمل خاصی در رابطه با آزمایش DNA باید در فرم ویژه ثبت شود.

● نمونه باید بطور کامل خشک و در ظرف کاغذی قرار داده شود.

● بسته‌ها را باید مهروموم و برچسب‌گذاری نمود.

● هر بسته را باید در صورت امکان در جای خنک نگهداری کرد و سریعاً به آزمایشگاه تحویل داد.

### مو

● مو باید بوسیله یک فورسپس تمیز برداشته شود.

● هر رشته یا دسته مو باید جداگانه بسته‌بندی، مهروموم و برچسب‌گذاری شود.

● باید دقت کرد که هنگام نمونه‌برداری به ریشه‌های مو آسیب وارد نشود.

● موهایی که آغشته به بافت، خون یا دیگر مایعات هستند بایستی با دقت جمع شوند و هر مورد در ظرف تمیزی قرار داده شده، مهروموم و برچسب‌گذاری شود.

● نمونه‌ها باید در جای خنک نگهداری و در اسرع وقت تحویل آزمایشگاه شود.

● اگر مو به واسطه مخلوط شدن با مایعات مرطوب باشد، بایستی قبل از تحویل به آزمایشگاه در هوای آزاد کاملاً خشک شود.

اولیه یا شواهد جزئی باید ثبت گردد.

● یک برگه اطلاعاتی باید برای ثبت اطلاعات هر نمونه استفاده شود. اطلاعات زیر برای استخراج DNA لازم است:

- شماره پرونده

- شماره و توصیف نمونه

- امضای متصدی

- شماره معرف

- دستورالعمل مورد استفاده

- میزان نمونه استفاده شده

● نتیجه آزمایش روی هر نمونه باید در برگه اطلاعاتی مربوطه ثبت شود.

● هر نمونه باید با دقت نگهداری و جابجا شود تا از برچسب‌گذاری غلط یا آلودگی جلوگیری شود.

● در صورت امکان، مقداری از نمونه جهت آزمایشهای مجدد احتمالی در آینده نگه داشته شود. این نمونه‌ها باید در فریزر نگهداری شوند. در بسیاری از موارد بعلت ناکافی بودن مقدار نمونه، امکان تقسیم آن نیست. در چنین مواردی باید نمونه را مطابق استاندارد آزمایشگاه پزشکی قانونی پردازش نمود.

● هر نوع برش ثانویه برای آزمایشگاه DNA باید در یک ظرف، لوله آزمایش یا بسته جداگانه قرار داده شده و برچسب‌گذاری گردد.

● همزمان با آغاز استخراج DNA، یک نمونه

۷- یک رسید حاوی اطلاعات زیر باید صادر شود: تاریخ، زمان، نام سازمان تحویل دهنده، نام فرد تحویل دهنده، شماره پرونده، شماره نمونه و نام دریافت کننده.

۸- شواهد عینی که برای آزمایش DNA تحویل داده می‌شود باید در اسرع وقت به بخش DNA آزمایشگاه فرستاده شده و همانگونه که قبلاً توضیح داده شد، نگهداری شود.

روشهای پردازش اولیه در آزمایشگاه

رهنمودهای زیر جهت پردازش اولیه پیش از آزمایش DNA پیشنهاد می‌گردد:

● یک فرم ویژه باید برای ثبت اطلاعات زیر در مورد هر نمونه استفاده شود.

- توصیف بسته و محتویات آن

- اطلاعات برچسب

- توصیف وضعیت نمونه

- شماره پرونده

- شماره پرونده و نمونه در آزمایشگاه

- تاریخ و امضای متصدی

● اندازه، محل، شکل و وضعیت آثار حاوی لکه باید ثبت شود.

● شواهد بیولوژیک مانند استخوان، دندان، ناخن و بافت باید در صورت لزوم وزن شود. مقدار مورد استفاده برای آزمایش DNA باید یادداشت شود.

● هرگونه نتیجه بدست آمده از آزمایشهای



است مستقلاً و بدون از غرضهای شخصی یک مظنون یا قربانی را به یک صحنه یا به یکدیگر ارتباط دهد؛ عکس این مطلب هم کاملاً صادق است. البته نمونه‌هایی که به طرز نامناسب جمع‌آوری، نگهداری، ثبت و ... می‌شوند هیچ ارزشی در تحقیقات جنایی ندارند.

آزمایش تعیین DNA در مواد بیولوژیک وسیله فوق‌العاده قدرتمندی برای تعیین هویت است. با این وجود اگر نکات فوق رعایت نشوند، دانشمندان علوم قانونی نمی‌توانند از این وسیله برای برقراری عدالت استفاده نمایند.

کنترل مثبت باید برای همه پروتکرها و معرف و همچنین نمونه مشکوک قرار داده شود. این مسأله شامل هر دو روش PCR و RFLP می‌شود. کنترل‌های مثبت و منفی اختصاصی برای PCR هم موجود است.

● DNA استفاده نشده باید به خوبی برچسب‌گذاری و در فریزر نگهداری شود.

### نتیجه‌گیری

هر روز بر اهمیت شواهد عینی در تحقیقات جنایی افزوده می‌شود. اظهارات شاهدان عینی غیرقابل اعتماد یا مغرضانه تصور می‌شود. شواهد عینی مثل DNA ممکن

منبع

\_ Forensic Applications of DNA-Typing, Collection and Preservation of DNA Evidence

The American Journal of Forensic Medicine and Pathology 19(1): 10-18, 1998.