

УДК 340.6: 579.8

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ В УЧЕБНОЙ МОДЕЛИ СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

Я.В. Макарская, 4 курс

Научный руководитель – **Я.С. Камельчук, старший преподаватель**
Полесский государственный университет

В работе представлены результаты микробиологического исследования биологических жидкостей (слюна, пот, слезная жидкость) в учебной модели судебно-медицинской экспертизы. Установлено, что исследуемые образцы демонстрируют различный уровень микробной обсеменённости: максимальное общее микробное число выявлено в слюне ($1,8 \times 10^6$ КОЕ/мл), минимальное – в слезной жидкости ($2,4 \times 10^2$ КОЕ/мл). Выделены и идентифицированы условно-патогенные микроорганизмы (*Staphylococcus spp.*, *Micrococcus spp.*, *Bacillus spp.*). Показано, что микробиологический профиль биожидкостей может служить дополнительным критерием при оценке контаминации образцов в судебно-медицинской практике.

Одной из актуальных задач современной судебной медицины является повышение достоверности экспертных заключений при исследовании биологических следов на месте происшествия [1,2,с.22.]. Биологические жидкости (кровь, слюна, пот, моча, сперма) выступают ключевыми объектами при расследовании преступлений против личности, установлении причин смерти и идентификации участников событий [3,с.2]. Микробиологический анализ таких образцов позволяет не только выявить патогенные или условно-патогенные микроорганизмы, но и оценить степень микробной контаминации, которая может исказить результаты экспертизы [4, 5, с. 55]. Особую значимость это приобретает при дифференциации прижизненных и посмертных изменений тканей, исключении артефактов, вызванных внешней контаминацией, а также при установлении возможных источников инфекции при насильственных действиях [6,с.7]. Однако, несмотря на развитие молекулярно-генетических методов, систематические сравнительные данные о микробиологических характеристиках различных биологических жидкостей в контексте судебно-медицинской экспертизы остаются фрагментарными.

В связи с этим целью настоящей работы явилась оценка микробиологических показателей биологических жидкостей (слюна, пот, слезная жидкость) и их значения для судебно-медицинской экспертизы в учебной модели.

Исследования проводились на базе учебной микробиологической лаборатории кафедры биотехнологии УО «Полесский государственный университет». Объектами исследования служили образцы слюны, пота и слезной жидкости, полученные от условно здорового добровольца ($n=3$, возраст 20–25 лет) без клинических признаков инфекционных заболеваний.

Забор слюны осуществляли в стерильные пробирки методом сплевывания после стимуляции жевательной резинкой без сахара. Пот отбирали стерильным сухим тампоном с поверхности кожи в подмышечной впадине после предварительной обработки 70% этиловым спиртом. Слезную жидкость забирали стерильной микропипеткой из нижнего конъюнктивального свода без анестезии.

Для определения общего микробного числа (ОМЧ) готовили последовательные десятикратные разведения образцов в стерильном физиологическом растворе (0,9% NaCl). Посев проводили на мясопептонный агар (МПА) методом «газона» по 100 мкл из каждого разведения. Инкубацию осуществляли при 37°C в течение 24–72 часов [7, с. 4]. ОМЧ рассчитывали по формуле [7, с. 88].

Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили по морфологическим (форма, цвет, размер, край колоний), тинкториальным (окраска по Грамму) и культуральным свойствам. Микроскопию мазков осуществляли с иммерсионной системой (увеличение $\times 1000$) [7, с. 77].

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета MS Excel. Данные представлены как среднее арифметическое $\pm$ стандартное отклонение.

В результате проведённых микробиологических посевов установлено, что исследуемые биологические жидкости существенно различаются по степени микробной обсеменённости. Наиболее высокий уровень бактериальной обсеменённости выявлен в образцах слюны, где показатель ОМЧ составил $(1,8 \pm 0,2) \times 10^5$ КОЕ/мл. Характер роста в данной группе был определен как обильный, сплошной газон, что свидетельствует о высокой плотности микроорганизмов и соответствует литературным данным о ротовой полости как о естественном биотопе с богатой и разнообразной микробиотой.

Значительно более низкое микробное число зафиксировано в образцах пота – $(3,6 \pm 0,4) \times 10^3$ КОЕ/мл, что примерно на два порядка ниже, чем в слюне. Рост микроорганизмов в этой группе характеризовался как умеренный с формированием отдельных колоний, что отражает менее благоприятные условия для размножения бактерий (например, наличие антимикробных пептидов, низкое содержание питательных веществ, изменение pH и осмотического давления).

Наименьшее количество микроорганизмов обнаружено в слезной жидкости – ОМЧ составило всего $(2,4 \pm 0,3) \times 10^2$ КОЕ/мл. Рост был расценен как скудный, единичные колонии. Это, вероятно, связано с выраженными бактерицидными свойствами слезы, в частности с высоким содержанием лизоцима, лактоферрина и других защитных факторов, обеспечивающих эффективный антимикробный барьер.

Таким образом, полученные результаты закономерно отражают различные экологические и защитные характеристики исследуемых биологических жидкостей: максимальная микробная нагрузка характерна для слюны, минимальная – для слезной жидкости, при этом пот занимает промежуточное положение [7, с. 66].

При микроскопии окрашенных по Грамму мазков из колоний, полученных после культивирования биологических жидкостей, был установлен качественный состав микробиоты. Выявлена выраженная гетерогенность микрофлоры в зависимости от типа биологической жидкости, а также различная частота встречаемости отдельных таксономических групп.

В образцах слюны зафиксировано наиболее разнообразное микробное сообщество. *Staphylococcus spp.* (коагулазоотрицательные) выделены во всех случаях (частота встречаемости 100%). Высокая обсеменённость данными микроорганизмами согласуется с максимальными показателями ОМЧ, отмеченными для слюны. *Micrococcus spp.* идентифицированы в 80% образцов, что свидетельствует об их роли как комменсалов ротовой полости. *Bacillus spp.* обнаружены в 40% случаев, что может отражать как транзитное носительство, так и контаминацию из внешней среды.

В образцах пота видовой состав оказался менее разнообразным. *Staphylococcus epidermidis* являлся доминирующим микроорганизмом, выявляясь в 100% проб. Данный факт закономерен, учитывая известную экологическую нишу *S. epidermidis* как представителя нормальной микрофлоры кожи. *Micrococcus luteus* присутствовал в 60% образцов. Отсутствие бацилл и других грамположительных палочек, вероятно, обусловлено бактерицидным действием компонентов пота.

Наиболее скудный видовой состав зарегистрирован в слезной жидкости. *Staphylococcus epidermidis* встречался лишь в 20% проб, что коррелирует с крайне низкими значениями ОМЧ. *Bacillus spp.* выявлены в виде единичных изолятов в 10% случаев, что, вероятно, связано с транзитной контаминацией, а не с персистенцией микроорганизмов в конъюнктивальной полости. Выраженное обеднение микробиоты слезы объясняется, по-видимому, высокой концентрацией антимикробных факторов (лизоцим, лактоферрин), подавляющих рост большинства бактерий.

В результате проведенного исследования выявлены различия в ОМЧ и видовом составе, что может служить дополнительным критерием при идентификации природы пятна на вещественных доказательствах

В результате проведенного исследования, при количественной характеристике микробной обсеменённости установлены статистически значимые различия в уровне общего микробного числа между исследуемыми биологическими жидкостями: максимальные значения ОМЧ зарегистрированы для слюны $1,8 \pm 0,2 \times 10^5$ КОЕ/мл, что в два раза превышает показатели пота $3,6 \pm 0,4 \times 10^3$ КОЕ/мл и в три раза показатели слезной жидкости $2,4 \pm 0,3 \times 10^2$ КОЕ/мл. Выявленная закономерность отражает различную выраженность естественных антимикробных барьеров в исследуемых биотопах. При определении микробиоты определён видовой состав микроорганизмов и частота встречаемости видов, выделенных из каждой биологической жидкости, при этом установлено, что в слюне преобладает *Staphylococcus spp.* с частотой встречаемости 100% во всех испытуемых, также с высокой численностью обнаружен *Micrococcus spp.* - 80%, не многочисленным оказался вид *Bacillus spp.* - 40%. Пот представлен преимущественно *Staphylococcus epidermidis* - 100% и *Micrococcus luteus* с частотой в 60% из числа испытуемых. Слезная жидкость отличается крайне скудной на микроорганизмы: *Staphylococcus epidermidis* выявлен в 20% испытуемых, *Bacillus spp.* – в 10% [7, с.90].

Установлена прямая корреляция между величиной ОМЧ и видовым разнообразием микроорганизмов: чем выше микробное число, тем богаче качественный состав микробиоты. Выявленные различия в количественных и качественных микробиологических показателях могут быть использованы в качестве дополнительных критериев при решении следующих экспертных задач.

Таким образом, установлена прямая зависимость между общим микробным числом и видовым разнообразием: максимальное разнообразие и частота встречаемости характерны для слюны, минимальные – для слезной жидкости. Пот занимает промежуточное положение с доминированием *St. epidermidis* и *M. luteus*.

Проведённое исследование, выполненное в рамках учебной модели, демонстрирует принципиальную возможность использования микробиологических показателей (ОМЧ, видовой состав) в качестве дополнительных криминалистически значимых признаков при судебно-медицинской экспертизе биологических следов. Однако для внедрения в практику необходимы дальнейшие исследования со стандартизацией условий забора и использованием современных методов масс-спектрометрии и секвенирования [7, с.48].

Список использованных источников

1. Лаврукова, О. С. Комплексная микробно-зоологическая характеристика постмортального периода при производстве судебно-медицинской экспертизы / О. С. Лаврукова, Н. А. Сидорова, В. Л. Попов. – Петрозаводск : Издательство ПетрГУ, 2023. – 116 с.
2. Morris, J. A. Postmortem bacteriology: a re-evaluation / J. A. Morris, L. M. Harrison, S. M. Partridge // Journal of Clinical Pathology. – 2006. – Vol. 59. – P. 1–9.
3. Spagnolo, E. V. Forensic microbiology applications: A systematic review / E. V. Spagnolo, M. Stassi, C. Mondello et al. // Legal Medicine. – 2019. – Vol. 36. – P. 73–80.
4. Saegeman, V. Microbiology in minimally invasive autopsy: best techniques to detect infection. ESGFOR guidelines / V. Saegeman, M. C. Cohen, J. Alberola et al. // Forensic Science, Medicine and Pathology. – 2021. – Vol. 17. – P. 87–100.
5. Бойко, Н. Н. Микробиота биологических жидкостей человека в норме и патологии / Н. Н. Бойко, С. В. Сидоренко // Журнал микробиологии. – 2021. – Т. 98, № 3. – С. 45–53.
6. Пашков, А. Н. Условно-патогенные микроорганизмы как маркеры контаминации в судебной медицине / А. Н. Пашков, Е. В. Крылова // Судебно-медицинская экспертиза. – 2022. – № 4. – С. 22–27.
7. Metcalf, J. L. Estimating the postmortem interval using microbes: knowledge gaps and a path to technology adoption / J. L. Metcalf // Forensic Science International: Genetics. – 2019. – Vol. 38. – P. 211–218.