

Wykorzystanie bioaerozolu w badaniach kryminalistycznych i ich powiązanie z innymi dziedzinami badawczymi

The use of bioaerosol in forensic studies and their relationship with other fields of research

Aleksandra Bednarz

Katedra Taksonomii Roślin i Fitogeografii, Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński

Streszczenie: Artykuł stanowi krótki przegląd zastosowania monitoringu cząstek biologicznych w powietrzu i ich wykorzystania w różnych dziedzinach nauki: archeologii, meteorologii, alergologii, ekologii, medycynie sądowej, a także jako alternatywy dla tradycyjnych badań palinologicznych. Ze względu na swoje właściwości pyłek i zarodniki stanowią doskonały materiał do analiz kryminalistycznych i mogą być wykorzystywane jako dowody w procesach dochodzeniowych. Użyteczność pyłku i zarodników w badaniach kryminalistycznych wynika nie tylko z ich niewielkich rozmiarów, ale także z odporności na degradację chemiczną, biologiczną i mechaniczną. Istotny jest też fakt, że ziarna pyłku i zarodniki z łatwością utrzymują się na rozmaitych nośnikach. Korzystne są ich powszechne występowanie oraz zróżnicowana morfologia.

Abstract: The article is a brief overview of the monitoring biological particles in the air and their use in various fields of science like archeology, meteorology, allergology, ecology, forensic medicine and as an alternative to traditional palynological studies. Due to its specific morphological features pollen grain and spores are an excellent material for forensic analysis and can be used as evidence in the investigation. The usefulness of pollen and spores in clinical forensic, results not only small size but also the resistance to chemical, biological and mechanical degradation. It is also important that the pollen and spores easily maintained on a variety of media. It is advantageous to their widespread occurrence and diverse morphology.

Słowa kluczowe: aerobiologia, bioaerozol, zarodniki, patogeny, alergologia, mikologia sądowa, palinologia, analizy kryminalistyczne

Key words: aerobiology, bioaerosol, spores, pathogens, allergology, forensic mycology, pallinology, forensic analysis

Aerobiologia to nauka zajmująca się cząstkami biologicznymi, występującymi zarówno w powietrzu zewnętrznym, jak i wewnątrz pomieszczeń. Głównym celem badawczym, wpływającym na jej rozwój jako dyscypliny naukowej, jest dążenie do zrozumienia sposobu rozprzestrzeniania się chorób nie tylko wśród ludzi, ale również zwierząt i roślin, aby podjąć próbę zapobiegania im. Silny nacisk kładziony jest na analizę rozproszenia pyłku roślinnego i zarod-

ników, natomiast ekologia samego powietrza ma drugorzędne znaczenie. Aerobiologia wymaga zrozumienia nie tylko sposobu przemieszczania się w powietrzu cząsteczek biologicznych, ale także zachodzenia licznych procesów fizycznych wyjaśniających ruch powietrza i zawieszonych w nim cząstek [1].

Zróżnicowane parametry meteorologiczne, które sprzyjają wystąpieniu poszczególnych typów zarodników, są doskonałym, ale nie jedynym wskaźni-

kiem do przewidywania koncentracji aerospor. Analiza stężeń zarodników jest istotna w aspekcie prognozowania i zapobiegania ich patogennym działaniom.

Powietrze, którym oddychamy, składa się nie tylko z gazów, takich jak: azot, tlen i dwutlenek węgla, ale zawiera również inne substancje lotne, cząstki nieorganiczne (np. drobinki skał, produkty spalania i pył z przestrzeni kosmicznej) oraz materiał pochodzenia biologicznego. Oprócz pyłku roślin i zarodników grzybów, występujących w zróżnicowanych kształtach i rozmiarach, bioaerazol może również zawierać protisty (np. pierwotniaki, glony i okrzemki), bakterie, wirusy, zarodniki mchów i paproci, fragmenty roślin i drobnych nasion, bezkręgowce i ich fragmenty (np. nicienie, roztocza, pająki i owady) oraz dowolne fragmenty organiczne. Rozmiary opisanych drobin mieszczą się w przedziale 1–200 µm. Substancje lotne mogą pochodzić ze źródeł biologicznych w postaci metabolitów, powstałych w procesach takich, jak: rozkład, fermentacja lub produkcja toksyn. W warunkach występowania „wystarczająco” wysokiego poziomu zanieczyszczeń w powietrzu wspomniany materiał może być widoczny gołym okiem w postaci pyłu, dymu i smogu [1].

Skład powietrza atmosferycznego zmienia się dynamicznie. W zależności od lokalizacji, warunków pogodowych, pór roku i dnia można zaobserwować odmienne skutki działania powyższych czynników na produkcję, transport i składowanie poszczególnych typów aerospor [2]. Na efektywność ich rozproszenia w powietrzu wpływają: liczba i sposób uwalniania produkowanych zarodników, rodzaj transportu i osadzania, a także ich długowieczność i uwarunkowania środowiskowe. Większość modeli opisujących codzienną okresowość „zarodnikowania” jest związana z czynnikami środowiskowymi, takimi jak: światło, temperatura czy wiatr. Znaczenie rytmów dobowych w produkcji i uwalnianiu zarodników w sukcesie ewolucyjnym grzybów rozważanych jako patogeny roślinne nie została potwierdzona. Aby zarodniki skutecznie rozproszyły się w powietrzu, muszą pokonać liczne przeszkody – przebyć trzy etapy porównywane z lotem samolotu: wyzwolenie zarodników („start”), transport („lot”) oraz osadzanie („ładowanie”) [3].

Szlaki aerobiologiczne ukazują różne etapy ruchu cząstek, takich jak zarodniki lub pyłek, zaczynając od ich źródeł, aż do skutków, jakie powodują podczas lądowania. Często, zamiast badać każdy proces z osobna, badano kombinację kilku procesów. Pobieranie próbek powietrza do badania niektórych cząstek (zwykle zarodników lub pyłku) może być przydatne do monitorowania zmian klimatycznych, szacowania i pro-

gnozowania stopnia rozproszenia czynników chorobotwórczych, alergenów lub gatunków kolonizujących nowe siedliska. Analiza składu powietrza dostarcza także informacji na temat zróżnicowania genetycznego organizmu produkującego spory, ułatwia wykrywanie patogenów lub alergenów oraz pozwala ocenić ryzyko rozprzestrzeniania się pyłku z odmian roślin modyfikowanych genetycznie lub pochodzących z zapylenia krzyżowego. Pobieranie próbek powietrza jest cennym narzędziem do badania epidemiologii chorób roślin. Ale nie tylko – badania pozwoliły również na określenie źródeł kataru siennego i ostrzeżenie przed możliwością wystąpienia jego objawów na podstawie detekcji alergenów w ciągu roku. W pomieszczeniach zostały wskazane źródła zanieczyszczeń mikrobiologicznych, istotnych ze względów medycznych oraz dla przemysłu spożywczego.

Wiele znajdujących się w powietrzu zarodników, promieniowców i bakterii może wywoływać objawy chorobowe u ludzi i zwierząt poprzez:

- bezpośrednią infekcję
- spożycie toksycznych metabolitów
- występowanie objawów alergii [1].

Wzrastająca liczba przypadków pyłkowicy i astmy w populacji ogólnej jest związana z obecnością pyłku i zarodników w powietrzu (takie dane pochodzą z publikacji dotyczących chorób układu oddechowego) [4, 5]. Informacje na temat wysokości stężenia pyłku i zarodników są regularnie udostępniane w mediach, co zapewnia chorym bieżącą wiedzę na temat obecności alergenów w powietrzu. Pyłek i zarodniki powiązane z występowaniem alergicznego nieżytu nosa i spojówek, astmy i atopowego zapalenia skóry u dzieci [6]. Coraz częściej zwraca się także uwagę na zastosowanie w medycynie wiedzy aerobiologicznej, dotyczącej relacji między aerobiologią a alergologią [7] oraz na temat występowania zarodników grzybów w powietrzu brytyjskich domów i konsekwencji zdrowotnych ich obecności [7, 8]. Zmieniające się wzorce zdrowia są odzwierciedlane zarówno przez odejście od środowiska naturalnego, jak i istotny wzrost liczby zarejestrowanych przypadków alergii, włącznie z pyłkowicą, sezonowym nieżytem nosa i astmą. Mieszkańcy miast spędzają większą część życia w pomieszczeniach – w trakcie pracy, w czasie wolnym, podczas jedzenia i spania.

Odpowiedź na alergen pyłku, określana mianem pyłkowicy, nie ogranicza się wyłącznie do ludzi, ale występuje również u zwierząt [1].

Ekspozycja na zarodniki grzybów wywiera na zdrowie człowieka wiele negatywnych skutków; jednym z nich są choroby alergiczne powodowane

przez uruchomienie mechanizmu reakcji nadwrażliwości. Dolegliwości te mogą przebiegać jako zespół objawów, którego przyczynami są: inhalacja spor grzybów obecnych w powietrzu, alergia kontaktowa, alergia pokarmowa, uczulenie na antybiotyki, oraz jako reakcja o charakterze alergicznym spowodowana istniejącymi w organizmie ogniskami zakażenia grzybiczego. Zarodniki grzybów zaliczane są do najliczniej występujących cząstek biologicznych w atmosferze, znacznie przewyższających liczebnością ziarna pyłku. Ze względu na niewielkie rozmiary (przykładowo jedno ziarno pyłku traw ma objętość równą 200 zarodnikom *Cladosporium*) mogą przedostawać się do dróg oddechowych razem z wdychanym powietrzem i być przyczyną rozwoju alergicznego zapalenia rozwijającego się w obrębie zarówno górnych, jak i dolnych dróg oddechowych [9, 10].

Niewiele wiadomo na temat liczby istniejących gatunków grzybów, chociaż nie mniej niż 100 tys. zostało już opisanych i szacuje się, że może ich być nawet 1,5 mln. Grzyby, bardziej niż jakakolwiek inna grupa organizmów, są istotnym komponentem biologicznym w globalnym obiegu węgla. Są zdolne do rozkładu prawie każdego naturalnie występującego biopolimeru oraz wielu stworzonych w laboratoriach przez człowieka. Dlatego też wykorzystuje się je jako źródła alternatywnych paliw do sekwestracji węgla i bioremediacji zanieczyszczonych ekosystemów [11].

W ostatnich badaniach [12] zebrano blisko 1000 próbek kurzu z całego kontynentu amerykańskiego i na drodze analizy zidentyfikowano ok. 40 tys. taksonów grzybów, z których wiele wykazywało wysoki stopień endemizmu geograficznego. Opracowano algorytm statystyczny poprzez analizę dyskryminacji. Pozwoliło to na prawidłowe rozpoznanie próbki w odległości kilkuset kilometrów od źródła jej pochodzenia [12]. Dzięki powyższym odkryciom wiedza mikologiczna w połączeniu z detekcją molekularną i umiejętnościami matematycznymi może być szeroko stosowana w wielu dziedzinach, m.in. przez archeologów, specjalistów z zakresu medycyny sądowej i naukowców, jako alternatywa dla tradycyjnych badań palinologicznych [11].

Mikologia sądowa jest stosunkowo nowym pojęciem, opisującym badanie gatunków grzybów zasiedlających zwłoki. Może mieć zastosowanie w medycynie sądowej, w szczególności w określaniu grup grzybów, które pomogą ustalić czas zgonu [13].

Zwłoki to obfite źródło materii organicznej. Wraz z rosnącą liczbą opisów eksperymentów i analizy przypadków mikologii kryminalistycznej wzrosła istotność badań właściwej roli grzybów w rozkładzie pośmiertnym [13, 14]. W prowadzonych badaniach

skupiano się na udziale grzybów w procesie pośmiertnym, ale niewiele z nich koncentrowało się na gatunkach, które są obecne na każdym etapie rozkładu, i możliwym zastosowaniu tych informacji w medycynie sądowej. Dodatkowo izolacja niektórych gatunków grzybów na określonych obszarach geograficznych pomaga opracowywać charakterystykę i klasyfikację typowych regionalnych mikroorganizmów ze względu na zmienność gatunków będących w kontakcie ze zwłokami w różnych warunkach wzrostu [14].

Zastosowanie mikologicznych dowodów w dochodzeniach kryminalnych oraz ich badanie, czyli mikologia sądowa, do niedawna były ograniczone do przypadków dotyczących gatunków trujących i psychotropowych. Jednak udało się znaleźć przypadki, w których dane o materiale pochodzenia grzybiczego pozwalają zapewnić tzw. dowody krytyczne. Mogą one stanowić dowody śladowe, pomóc w określaniu czasu od momentu śmierci, jej przyczyny, halucynacji lub zatrucia, a także ułatwić lokalizację zakopanych zwłok oraz stanowić broń biologiczną [15].

Poza klasycznymi analizami mikologicznymi cennym źródłem informacji jest wiedza z zakresu palinologii, która zajmuje się badaniem nie tylko ziaren pyłku, ale również zarodników.

Użyteczność pyłku i zarodników w badaniach kryminalistycznych wynika nie tylko z ich niewielkich rozmiarów, ale także odporności na degradacje chemiczne, biologiczne i mechaniczne. Istotny jest też fakt, że ziarna pyłku i zarodniki z łatwością utrzymują się na rozmaitych nośnikach. Korzystne są ich powszechne występowanie oraz zróżnicowana morfologia [16].

Podobnie jak inne palinomorfy, zarodniki grzybów mogą być odbierane przez dowolny obiekt mający z nimi kontakt i podlegają rozważaniom tafonomicznym. Głównymi źródłami materiału dochodzeniowego są: gleba, osady, roślinność i zanieczyszczenia roślinne. Wzrost organizmów grzybowych obserwuje się na kamieniach, ceglach, dachówkach, kostce brukowej, drewnianych obiektach, skórce, tworzywach sztucznych, gumie i tkaninach. Ich zarodniki mogą zatem zapewnić źródło informacji traseologicznej w sytuacjach, gdy inne palinomorfy są nieliczne lub nieobecne [15].

Sporomorfy podczas oddychania przenikają do przewodu oddechowego, stąd ich obecność w płucach i przestrzeni nosowo-gardłowej. Występują również we włosach, gdzie często są przechowywane dłużej niż na powierzchni ciała, z którego łatwo splukują się w trakcie mycia. Materiał o znaczeniu kryminalistycznym najczęściej ujawniany jest na odzieży, obuwiu i innych przedmiotach, w których przypadku nie

można wykluczyć ich związku z przestępstwem, takich jak np. elementy pojazdów: karoseria, opony, nadkola, wykładziny tapicerskie, podłogi, pedały gazu, sprzęgła, hamulec nożny itp. Ślady palinologiczne były już ujawniane do celów dowodowych na pętli wisielczej, broni palnej, dokumentach, cennych obrazach i zabytkowych meblach. Pyłek i zarodniki, które pierwotnie mogą się znajdować w obrębie miejsca zdarzenia, ze względu na łatwe wiązanie się z każdym, także nowym podłożem, często w dużych ilościach są obecne na odzieży ofiary i sprawcy, w obrębie drogi pokonywanej do miejsca przestępstwa, w miejscu walki, ucieczki lub na obszarze przemieszczania się w inne miejsce [17].

W kryminalistyce największą wartość dowodową mają ziarna pyłku i zarodniki rzadko występujące, związane z określonym terenem i transportowane na nieznaczne odległości [17].

Badania z zakresu palinologii często ułatwiają rozwiązanie spraw kryminalnych, dając cenne informacje na temat powiązania podejrzanego z miejscem zdarzenia lub ujawnienia (np. zwłok), związku dowodu rzeczowego z podejrzanym bądź z miejscem ujawnienia lub zdarzenia, co może być podstawą do potwierdzenia albo wykluczenia alibi. Pozwalają również umożliwić zawężenie grupy podejrzanych i ustalić drogę, jaką przebyły materiały dowodowe, mogą także stać się źródłem informacji na temat pochodzenia dowodu rzeczowego (określenie środowiska, pochodzenia geograficznego), dodatkowo wspomagając działania policji informacjami umożliwiającymi lokalizację ukrytych mogił i szczątków oraz ustalanie okoliczności przed zabójstwem ofiary. Pomocniczo palinologię wykorzystuje się także do ustalania czasu spoczywania zwłok w danym miejscu [16].

Zasadniczymi warunkami powodzenia badania są: prawidłowe pobranie próbek, właściwe ich opisanie oraz przechowywanie w odpowiednich warunkach przed przekazaniem do ekspertyzy, jak również prawidłowe wykonanie badania i odpowiednia interpretacja wyników. Analiza pyłkowo-zarodnikowa uznana jest za metodę naukową, która bazuje na niezwykle trwałym materiale, charakteryzującym się stosunkowo łatwym sposobem pobrania i zabezpieczenia prób oraz przydatnym do wielokrotnych badań. Jest niekosztowna i możliwa do szybkiego wykonania. Dowód naukowy, który wynika z analizy pyłkowo-zarodnikowej, przybiera formę ekspertyzy biegłego [17].

Zgodnie z artykułem 194 k.p.k. organ procesowy powinien w postanowieniu o powołaniu biegłego określić przedmiot i zakres ekspertyzy oraz – o ile jest to możliwe – zadać pytania szczegółowe [18]. Pytania skierowane do biegłego powinny dotyczyć wiedzy

z zakresu, którym biegły dysponuje, być zgodne z obecnymi możliwościami badawczymi, muszą też być rzeczowe i zrozumiałe sformułowane. Przykładowo mogą one odnosić się do tego, czy ślady palinologiczne zabezpieczone na przedmiocie lub materiale dowodowym pochodzą z miejsca zdarzenia oraz czy istnieje zgodność cech śladu, który został zabezpieczony na odzieży osoby podejrzanej, z materiałem porównawczym zabezpieczonym w miejscu zbrodni [19].

W celu właściwego przeprowadzenia badań identyfikacyjnych niezbędny jest materiał dowodowy. Według Kulickiego i wsp. [20] są to „ślady pochodzące z miejsca przestępstwa mogące posłużyć do identyfikacji grupowej lub indywidualnej”. Zgodnie z art. 207 k.p.k. „w razie potrzeby dokonuje się oględzin osoby, miejsca lub rzeczy. Rzeczą będzie każdy przedmiot materialny, mogący z racji swego istnienia lub położenia być śladem kryminalistycznym lub będący nośnikiem takich śladów”. Artykuł 297 § 1 pkt 5 k.p.k. stanowi z kolei, iż „celem postępowania jest m.in. zebranie, zabezpieczenie i w niezbędnym zakresie utrwalenie dowodów dla sądu”. Natomiast zgodnie z treścią przepisu 205 k.p.k. „w celu dokonania oględzin, obliczeń, pomiarów i utrwalenia śladów można wezwać specjalistów”. „Materiał taki tworzy ślady kryminalistyczne zabezpieczone zarówno w ujęciu procesowym i technicznym podczas oględzin miejsca, rzeczy lub zwłok”. Podstawą prawną jest art. 207 § 2 k.p.k. oraz art. 297 § 1 pkt 5 k.p.k. [20].

Złożoność aerobiologii i jej interdyscyplinary charakter umożliwiają wykorzystanie zakresu jej zainteresowań w wielu odległych od siebie dziedzinach. Różnorodne metody badań bioaerolu stosuje się nie tylko w analizach samego powietrza, biologii molekularnej, patofizjologii roślin, medycynie – w tym również w alergologii – ale także coraz częściej w celu pozyskiwania alternatywnych źródeł paliw, w badaniach archeologicznych oraz jako doskonałe narzędzie badawcze i dowodowe w obrębie mikologii sądowej i kryminalistyki.

Piśmiennictwo:

1. Lacey M., West J.: *The Air Spora: A Manual for Catching and Identifying Airborne Biological Particles*. Springer, 2006: 1-27.
2. Mullins J.: *Microorganisms in outdoor air in: Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*. Taylor & Francis, London 2001: 3-16.
3. Brown J.: *Airborne inoculum. W: Plant pathogens and diseases*. Armidale, NSW, Australia: Rockvale Publications 1997, 207-218.

4. Newson R., Strachan D., Corden J. et al.: Fungal and other spores as predictors of admissions for asthma in the Trent region. *Occup. Environ. Med.* 2000, 57: 786-792.
5. Corden J.M., Millington W.M., Mullins J.: Long-term trends and regional variation in the aeroallergen *Alternaria* in Cardiff and Derby UK – are differences in climate and cereal production having an effect. *Aerobiologia* 2003, 19: 191-199.
6. Burr M.L., Emberlin J., Treu R. et al.: Pollen counts in relation to the prevalence of allergic rhinoconjunctivitis, asthma and atopic eczema in the international study of asthma and allergies in children (ISAAC). *Clin. Exp. Allergy* 2003, 33: 1675-1680.
7. Morrow-Brown M.: The relationship between aerobiology and allergology. W: *Recent Trends in Aerobiology and Immunology: a Collection of plenary Lectures and Contributory Articles.* Oxford & IBH Publishing CO. PVT., New Delhi 1994: 1-30.
8. Hunter R.G., Lea R.G.: The airborne fungal populations of representative British homes. W: Samson R.A., Flannigan B., Flannigan M.E. et al. (red.): *Health Implications of fungi in indoor environments.* 1994: 141-153.
9. Semik-Orzech A, Barczyk A, Pierzchała W.: Wpływ występowania nadwrażliwości na alergeny grzybów na rozwój i przebieg chorób alergicznych układu oddechowego. *Pneumonol. Alergol. Pol.* 2008, 76: 29-36.
10. Twaroch T.E., Curin M., Valenta R. et al.: *Mold Allergens in Respiratory Allergy: From Structure to Therapy.* *Allergy Asthma Immunol. Res.* 2015, 7(3): 205-220.
11. Jędryczka M.: *Fungi taxonomy. Manual for Aerobiology: 12th European Course on Basic Aerobiology, 20–26 July. Rzeszów, Poland, Wydawnictwo Uniwersytetu Rzeszowskiego* 2015.
12. Grantham N.S., Reich B.J., Pacifici K. et al.: Fungi Identify the Geographic Origin of Dust Samples. *PLoS ONE* 2015, 10(4): e0122605.
13. Carter D.O., Tibbett M.: Taphonomic mycota: fungi with forensic potential. *J. Forensic Sci.* 2003, 48: 168-171.
14. Sidrim J.J.C., Moreira Filho R.E., Cordeiro R.A. et al.: Fungal microbiota dynamics as a postmortem investigation tool: focus on *Aspergillus*, *Penicillium* and *Candida* species. *J. Appl. Microbiol.* 2010, 108(5): 1751-1756.
15. Hawksworth D.L., Wiltshire P.E.J.: Forensic mycology: the use of fungi in criminal investigations. *Forensic Sci. Int.* 2011, 206: 1-11.
16. Mildenhall D.C., Wiltshire P.E.J., Bryant V.N.: Forensic palynology: Why do it and how it works. *Forensic Sci. Int.* 2006, 16: 163-172.
17. Zachuta A.: *Palinologia kryminalistyczna, Prokuratura i Prawo* 2004, 10: 129-144.
18. Kmiecik R., Skrętowicz E.: *Proces karny. Część ogólna wydanie 7.* Oficyna a Wolters Kluwer Business 2009: 325.
19. Dembowski K.: Zastosowanie śladów palinologicznych w kryminalistyce. *WPiA Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, Kortowski Przegląd Prawniczy*, 3/2014: 41-46.
20. Kulicki M., Kwiatkowska-Darul V., Stępka L.: *Kryminalistyka. Wybrane problemy teorii i praktyki śledczo-sądowej.* WN UMK Toruń 2005: 360-365.

Konflikt interesów/Conflict of interests:

Nie występuje.

Finansowanie/Financial support:

Nie występuje.

Etyka/Ethics:

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

Adres do korespondencji:

mgr Aleksandra Bednarz

Katedra Taksonomii Roślin i Fitogeografii,
Wydział Biologii, Uniwersytet Szczeciński
71-415 Szczecin, ul. Wąska 13