

# KAN LEKESİ ANALİZİNDE İHTİMALİ REAKTİFLER: ÖZGÜLLÜK, ÖZGÜNLÜK VE KONTAMİNASYONUN ETKİSİ

## PRESUMPTIVE BLOOD TESTS IN THE ANALYSIS OF BLOODSTAINS: SPECIFICITY, SENSITIVITY AND EFFECT OF CONTAMINATION

Dr. Yalçın BÜYÜK\*  
Doç. Dr. Faruk AŞICIOĞLU\*\*

Adli Bilimler Dergisi / Turkish Journal of Forensic Sciences, 5 (2): 13-21,2006

### ÖZET

Kan lekesi tarama testlerinden fenolftalein, lökomalaşit yeşili ve luminolün değişik leke tipleri varlığında özgünlük, özgüllük ve yalancı negatiflik açısından karşılaştırmalı analizini hedefleyen deneysel bir model hazırlanmıştır. 1/50 ile 1/ 2 000 000 arası dilüsyonlardaki kan solüsyonlarından hazırlanmış filtre kâğıdı ve kumaşta oluşturulan lekeler her üç kimyasal uygulanarak reaksiyonun ortaya çıktığı dilüsyonlar kaydedilmiştir. Oluşturulan lekeler oda sıcaklığında 24 saat bekletilerek her üç kimyasal ile oluşan reaksiyon süreleri değerlendirilmiştir. Kumaşta oluşturulan lekeler ayrıca nemli ve kuru ortamlarda yedişer gün bekletildikten sonra her üç kimyasalla olan reaksiyonları da değerlendirilmiştir.

Özgünlüğün test edilmesi amacı ile çeşitli sebze, meyve, kimyasal ve biyolojik örneklerden hazırlanmış lekeler üzerine 3 reaktif kimyasallar uygulanarak reaksiyonlar değerlendirilmiştir. Kontaminant varlığının yalancı negatifliğe olan etkisinin değerlendirilmesi amacıyla; kan örnekleri ve lekeler gıda kodeksine uygun konsantrasyonlarda askorbik asit ilave edilerek ilk negatif okumaların gözlemlendiği dilüsyonlar kaydedilmiş ve konsantrasyon derişikliği artırılarak kontaminant yoğunluğunun etkisi değerlendirilmiştir.

Tüm sonuçlar luminolün diğer iki reaktiften anlamlı derecede daha sensitif ve daha özgün olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kan lekesi, tarama testleri, özgünlük, özgüllük, kontaminasyon

### ABSTRACT

In order to compare the sensitivity and specificity of 3 presumptive blood tests (phenolphthalein, leucomalachite green and luminol) we designed an experimental model. We prepared fresh blood solutions of dilutions ranging between 1/50 and 1/ 2 000 000 and filter paper stains and cloth stains were prepared with these dilutions. After application of three reagents on specimens, the time elapsed for the presence of reaction was recorded. Bloodstains prepared on filter paper were placed to dry on room temperature. Bloodstains prepared on cloth pieces were divided into two groups, one placed to dry in moist environment and the other in dry environment.

For specificity assessment we applied 3 reagents on various fruits, vegetables, chemicals and biological samples and the reactions were evaluated. To evaluate the effect of contaminant, ascorbic acid was added to the stains and the tests were performed. The time of first negative reaction was recorded and the effect of contaminant density was evaluated by increasing the concentration of ascorbic acid.

Results of our study showed that luminol is the best sensitive and specific screening test for blood.

**Keywords:** Bloodstain, screening tests, specificity, sensitivity, contamination

## GİRİŞ-AMAÇ

Şiddetin söz konusu olduğu her olayda kan lekelerinin varlığı kaçınılmazdır. Olayın aydınlatılmasında oldukça değerli veriler sağlayan ve soruşturmaya yön veren kan lekelerinin karşılaştırmalı analizleri sonucunda sanığın kimliklendirilmesi de mümkün olabilmektedir. Kan lekelerinin önem arz ettiği bir diğer konu kan lekeleri model analizi olup gelişmiş ülkelerde bu yöntemden yıllardır yararlanılmasına karşın ülkemizde ancak son zamanlarda hak ettiği ilgiyi görmeye başlamıştır (1).

Biyolojik delil olarak olay yerinde bulunan lekelerden hangisi ya da hangilerinin kan lekesi olduğunun tespiti, olay yeri incelemesi ve biyolojik delil toplanması sürecinin önemli bir basamağını oluşturmaktadır. Kan lekesi olduğu düşünülen lekeler üzerinde yapılacak olan DNA analizi gibi ileri incelemeler oldukça pahalı incelemeler olduğundan bu lekelerin gerçekten kan lekesi olup olmadıklarının tarama testleri (ihtimali reaktifler, screening tests, presumptive tests) ile tespiti sonraki çalışmalar açısından önem kazanmaktadır. Bu nedenle, lekenin türü hakkında karar verilmesini sağlayan ve sonraki basamağa geçişi belirleyen bu tarama testlerinin güvenilirliği de önem kazanmaktadır (2, 3).

Çalışmamızda halen birçok laboratuvarında kullanılmakta olan değişik tarama testlerini özgünlük, özgüllük, yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik açılarından karşılaştırarak birbirlerine olan üstünlüklerinin tespiti yanında, zayıf yönlerinin de deneysel olarak gösterilmesi, böylece efektif test seçimine katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Deneyler Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Dairesi Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ihtimali reaktiflerden fenolftalein, lökomalaşit yeşili ve luminolün

özgüllük, özgünlük, yalancı pozitiflik ve yalancı negatiflik açılarından karşılaştırılması için deneysel bir model hazırlanmıştır. Test solüsyonlarının hazırlanmasında venöz ponksiyon ile elde edilen kan kullanılmıştır. Kan örneği distile su ile sulandırılarak 1:50, 1:100, 1:500, 1:1 000, 1:5 000, 1:10 000, 1:50 000, 1:100 000, 1:500 000, 1:1 000 000, 1:2 000 000 dilüsyonlar elde edilmiştir. Her bir solüsyon ile filtre kâğıdına eşit miktarda damlatılmak sureti ile birbirine özdeş olan lekeler elde edilerek oda sıcaklığında 24 saat havada kurumaya bırakılmıştır. Aynı işlemler kumaş parçalarına da uygulanarak kumaş lekeleri elde edilmiştir. Kumaş üzerine hazırlanan lekeler 3 gruba ayrılmış, gruplardan biri oda sıcaklığında 24 saat bekletilerek günlük lekeler oluşturulurken, ikinci grup nemli bir ortamda yedi gün, üçüncü grup ise kuru bir ortamda yedi gün kurumaya bırakılmıştır.

Her bir reaktifin damlatılması ile pozitif kabul edilecek renk değişikliğinin gözlenmesi arasında geçen süre deneyin tüm aşamalarında saniye cinsinden kaydedilmiştir. Değişik dilüsyonlardaki kan ve lekeler reaktifler uygulanarak renk değişikliği olup olmadığı değerlendirilmiştir. Renk değişimi için maksimum süre 20 saniye olarak kabul edilerek bu süreden sonra gözlenen renk değişiklikleri pozitif sonuç olarak değerlendirilmemiştir. Luminol reaktifi ise karanlık ortamda uygulanmış ve oluşan luminansın varlığı ve derecesi kalitatif olarak değerlendirilmiştir.

Reaktiflerin özgünlük derecesi çeşitli sebze ve meyveler ile kimyasal maddelere ait lekelerle karşı oluşan reaksiyonlara bakılarak değerlendirilmiştir. Özgünlük deneyleri için meyve, sebze, bitkisel-hayvansal örnekler ile kimyasal ve biyolojik örnekler seçilir iken literatürdeki benzer çalışmalarda (1) kullanılan örneklerden farklı olarak ülkemiz koşullarında olay yerinde bulunabilecek olanların seçilmesine dikkat edilmiştir. Her bir sebze ve meyve havan ile ince macun kıvamına getiril-

dikten sonra oluşturulan lekeler 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Çeşitli meyve ve sebzeler için elde edilen örnekler her üç test reaktifi ile muamele edilerek, sırası ile 20. ve 60. saniyelerde oluşan reaksiyonlar ayrı ayrı kaydedilmiştir. Bu amaçla kullanılan sebze ve meyveler ile kimyasal ve diğer materyallere ait lekelerin listesi Tablo 1.1, 1.2, 1.3 'de sunulmuştur.

Yanlış negatifliği değerlendirmek üzere Türk Gıda Kodeksi baz alınarak içeceklerde antioksidan olarak bulunmasına izin verilen doza uygun şekilde (0.03 g/kg) distile su ile sulandırılan askorbik asit solüsyonu kullanılmıştır. Ayrıca askorbik asidin daha derişik konsantrasyonlardaki etkisinin test edilmesi amacı ile de gıda kodeksine uygun konsantrasyondaki solüsyonun derişimi 2, 4 ve 8 kat artırılarak daha yoğun askorbik asit solüsyonları hazırlanmıştır. Her bir kan örneğinin 1 mililitresine 1 ml askorbik asit solüsyonu kullanılmıştır. Filtre kâğıdına 5 damla askorbik asit, 2 damla reaktif eklenerek reaksiyon değerlendirilmiştir. Kontrol testi olarak kontaminant ile pozitif reaksiyon alınmadığı teyid edilmiştir. Kontaminant ile olan reaksiyonlar hem kan solüsyonları ve hem de bu solüsyonlardan hazırlanmış olan lekeler üzerinde her bir dilüsyon için ayrı ayrı çalışılmış olup, 20 saniye içinde oluşan renk reaksiyonu ya da luminansın ortaya çıktığı süre saniye olarak kaydedilmiştir. Yirmi saniyeden sonra oluşan reaksiyonlar pozitif reaksiyon olarak kabul edilmemiştir.

Tablo 1.1 Özgünlük deneylerinde kullanılan sebze ve meyveler

Salatalık	Patlıcan	Kavun	Kayısı
Kuru Soğan	Yeşil Soğan	Kiraz	Muz
Biber	Havuç	Portakal	Limon
Yeşil Fasulye	Turp	Karpuz	Çilek
Patates	Ispanak	Malta eriği	
Mor Lahana	Üzüm	Kivi	
Domates	Elma	Erik	

Tablo 1.2 Özgünlük deneylerinde kullanılan kimyasal-bitkisel-hayvansal kaynaklı maddeler

Bakır Klorür	Naftalin
Potasyum Ferrosiyenid	Demir Sülfat
Plastik Boya	Kurşun Subasetat
Alüminyum Subasetat	Potasyum İyodür
Demir Pası	Batikon
Yeşil Yaprak	inek Sütü
Sulandırılmış Çamaşır Suyu	Formalin
Mersol	Potasyum Permanganat
Kireç-Badana	Tuğla/Kiremit Tozu
Deterjan	

Tablo 1.3 Özgünlük testlerinde kullanılan biyolojik örneklere ait lekeler

Semen	Tükürük
Ter	İdrar
Gaita	Vajinal Sekresyon
Hayvan Kanı	Gözyaşı

## BULGULAR

### Özgünlük Sonuçları

#### Fenolftalein

Taze kan solüsyonlarında fenolftalein ile 1:10 000 dilüsyondan sonra pozitif reaksiyon tespit edilmemiştir. 1:50, 1:100 ve 1:500 dilüsyonlardaki kan solüsyonlarında ilk saniye içinde renk reaksiyonu tespit edilirken, bu dilüsyondan sonra 1:10 000 dilüsyon da dahil olmak üzere reaksiyon süresi giderek uzamış olup, 1: 10 000 dilüsyonda 12. saniyede reaksiyon gözlenmiştir. 1: 50 000 ve 1:2 000 000 dilüsyonlar arasındaki taze kan solüsyonlarında 20 saniye süresince renk reaksiyonu gözlenmediğinden negatif olarak kaydedilmiştir. Filtre kağıdı ve kumaşlardaki kan lekelerinde de özgünlük açısından benzer sonuçlar gözlenmiş olup, filtre kağıdındaki bir günlük lekelerde 1:50, 1:100 ve 1:500 dilüsyonlarda reaksiyon ilk 2 saniye içinde alınmış olup, takip eden dilüsyonlarda süre uzamış ve son pozitif reaksiyonun gözlendiği

1: 10 000 dilüsyonda reaksiyon süresi 15 saniye olarak kaydedilmiştir. Reaksiyon süresinin uzadığı örneklerdeki renk oluşumu ilk dilüsyonlardaki kadar güçlü alınmamıştır. Bir günlük elbise lekeleri ile kuru ve nemli ortamlarda 7 gün bekletilmiş kumaş lekelerinde elde edilen özgünlük sonuçları da en son reaksiyon gözlenen dilüsyon açısından benzer bulunmuştur. Son olarak 1:10 000 dilüsyonda gözlenen pozitif reaksiyon 20. saniyede gözlenmiş olup, kuru ve nemli ortamlarda bekletilmiş lekeler arasında reaksiyon süresi açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır.

#### Lökomaşit Yeşili

Lökomaşit yeşili ile tüm örneklerde 1:5 000 dilüsyondan sonra pozitif reaksiyon alınmamıştır. Taze kan solüsyonları ile 1:50, 1:100 ve 1:500 dilüsyonlarda ilk saniye içinde pozitif reaksiyon elde edilirken daha seyrek örneklerde reaksiyon süresinin giderek uzadığı görülmüştür. En son pozitif reaksiyon alınan 1: 5 000 dilüsyonda 20 saniye içinde reaksiyon alınmıştır. 1: 5 000 dilüsyondan sonraki dilüsyonların hiç birinde 20 saniye içinde pozitif sonuç alınmamıştır. Bir günlük filtre kağıdı lekelerinde de benzer sonuçlar alınmış olup, ilk iki dilüsyonda ilk saniyeler içinde renk reaksiyonu gözlenmiş iken, sonraki dilüsyonlarda reaksiyon süresinin uzadığı ve 1:5 000 dilüsyonda reaksiyonun 20 saniye sonunda oluştuğu görülmüştür. Kumaş lekelerinde reaksiyonun ortaya çıkış süresi 1:50 dilüsyonda ilk saniye içinde iken, diğer solüsyonlarda giderek uzadığı ve en son reaksiyon alınan 1:5 000 dilüsyonda 20 saniyenin sonunda reaksiyon oluştuğu gözlenmiştir. Farklı nem ortamlarında bekletilmiş olan kumaş lekelerinde reaksiyon süresi açısından anlamlı farklılık tespit edilmemiştir.

#### Luminol

**Diğer iki teste göre belirgin bir üstünlük gösteren luminol ile** taze kan solüsyonlarında ve bir günlük kumaş lekelerinde 1: 2 000 000

dilüsyonda 2-3 saniye içinde pozitif yanıt elde edilmiştir. 1: 10 000 dilüsyon da dahil olmak üzere 1: 50- 1: 10 000 dilüsyonlar arasında hazırlanan tüm leke tipleri ve taze solüsyonlarda ilk saniyelerde reaksiyon alınmış olup, filtre kağıdı lekeleri ile nemli ve kuru ortamlarda bekletilmiş olan kumaş lekelerinde en son reaksiyon alınan dilüsyonun 1: 100 000 olduğu saptanmıştır. 1: 500 000, 1: 1 000 000 ve 1: 2 000 000 dilüsyonlarında kan solüsyonu, bir günlük kumaş lekesi ile 2-3 saniye içinde luminans alınır iken, nemli ve kuru ortamda bekletilmiş kumaş lekeleri ve filtre kağıdı lekesinde 20 saniye içinde pozitif reaksiyon alınmamıştır. Nemli ve kuru ortamlarda 7 gün bekletilmiş olan kumaşlardaki kan lekelerinde luminol ile reaksiyonun süresi ya da duyarlılık dilüsyonları arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

#### Özgünlük Sonuçları

##### Sebze Lekeleri

Mor lahana lekesinde fenolftalein ile ortası sarı çevresi yeşil, lökomaşit yeşili ile ise pembe renk reaksiyonu gözlenmiş, ancak her iki renk reaksiyonu da kan ile beklenen renk olmadığından negatif olarak kabul edilmiştir. Mor lahana lekesine luminol reaktifinin spreyleneşinden sonra ilk 20 saniyede gözlenmeyen luminans 60 saniyeden itibaren gözlenmiştir. Bunların dışındaki diğer sebze lekelerinin hiç birinde tarama testleri ile pozitif renk reaksiyonu ya da luminans saptanmamıştır.

##### Meyve Lekeleri

Çalışılan meyve lekelerinin hiçbirinde lökomaşit yeşili, fenolftalein ve luminol ile pozitif reaksiyon tespit edilmemiştir.

#### Kimyasal-Bitkisel-Hayvansal Kaynaklı Örnekler

Fenolftalein reaktifi potasyum ferrosiyanid ile parlak menekşe renginde bir renk reaksiyonu vermiş olup, reaksiyon kan için beklenen

renk olmadığından negatif kabul edilmiştir. Potasyum permanganat ise fenolftalein ile kan lekeli varlığında elde edilen pembe renk değişikliği ile sonuçlanarak yanlış pozitif reaksiyon vermiştir. Lökomalaşit yeşili ile bakır klorür varlığında yanlış pozitif renk reaksiyonu tespit edilirken potasyum ferrosiyaniid ile açık yaprak yeşili bir renk reaksiyonu tespit edilmiştir. Kan lekesinde beklenen renkten oldukça farklı tondaki bu renk reaksiyonu kolaylıkla ayırt edilebilir nitelikte olduğundan negatif olarak kabul edilmiştir. Luminol ile bakır klorür, potasyum ferrosiyaniid, demir sülfat ve potasyum permanganat örneklerinde pozitif reaksiyon elde edilmiştir.

#### Biyolojik Örnekler

Tablo 1.3'deki biyolojik örneklerden sadece hayvan kanında her üç reaktif ile pozitif reaksiyon alınmıştır.

#### Kontaminant Varlığında Yalancı Negatiflik

##### Fenolftalein

Gıda kodeksine uygun konsantrasyonda hazırlanmış olan askorbik asit solüsyonu ile muamele edilmiş olan taze kan solüsyonlarına reaktif uygulandığında 1/50 ve 1/100 dilüsyonlarda pozitif sonuçlar elde edilirken 1/500 ve 1/1 000 dilüsyonlarda oldukça zayıf bir renk reaksiyonu alınmıştır. Bundan sonraki dilüsyonlarda ise kan varlığına rağmen pozitif reaksiyon elde edilememiştir. Filtre kağıdına hazırlanmış örneklerde ise 1/50-1/1 000 arası dilüsyonlarda oldukça zayıf bir renk reaksiyonu elde edilirken sonraki dilüsyonlarda pozitif renk reaksiyonu elde edilmemiştir. Gıda kodeksinde kabul edilenden sekiz kat konsantrasyonda askorbik asit çözeltisi ile ise 1/50 dilüsyonda dahi pozitif reaksiyon elde edilememiştir.

##### Lökomalaşit Yeşili

Gıda kodeksine uygun askorbik asit çözeltisi içeren taze kan solüsyonlarına reaktif uygulandığında 1/50 dilüsyonda zayıf pozitif

bir renk reaksiyonu gözlenmiş iken sonraki dilüsyonlarda negatif sonuç alınmıştır. Filtre kağıdına emdirilmiş örneklerde ise 1/50 ve 1/100 dilüsyonlarda zayıf pozitif bir renk reaksiyonu gözlenmiş, diğer dilüsyonlarda pozitif yanıt elde edilmemiştir. Gıda kodeksine göre sekiz kat konsantrasyonda çözeltinin uygulandığı örneklerde ise 1/50 dilüsyonda bile pozitif renk reaksiyonu gözlenmemiştir..

##### Luminol

Gıda kodeksine uygun hazırlanmış askorbik asit çözeltisi ile muamele edilmiş olan taze kan solüsyonlarında luminol ile tüm dilüsyonlarda luminans alınmıştır. Filtre kağıdına hazırlanmış olan lekelerde ise 1/500 000 dilüsyona kadar pozitif reaksiyon elde edilirken daha dilüe Örneklerde negatif sonuç elde edilmiştir. **Ancak, bu sınır filtre kağıdı lekeleri için normalde de luminolün reaksiyon verme sınırı olduğundan askorbik asit uygulamasının luminol ile reaksiyonu etkilemediği sonucuna varılmıştır.** Sekiz kat konsantrasyonda askorbik asit çözeltisi ile muamele edilen taze kan solüsyonlarında ve bunlardan hazırlanmış filtre kağıdı lekelerinde 1/ 5 000 konsantrasyondan sonra reaksiyon alınamamıştır. Daha konsantrasyonda askorbik asit çözeltileri ile ilk dilüsyondan itibaren pozitif reaksiyon alınamamıştır.

#### TARTIŞMA VE SONUÇ

Fenolftaleinin özgünlüğüne ilişkin sonuçlarımız Cox tarafından yapılmış benzer çalışmadaki filtre kağıdı ve pamuklu kumaş lekelerinde alınan 1/10 000 oranı ile uygunluk göstermektedir (4). Aynı çalışmada taze kan solüsyonları için fenolftalein sensitivitesinin 1/ 100 000 olduğu bildirilmiş, ancak bizim çalışmamızda kan solüsyonları için de sensitivitenin 1/ 10 000 olduğu gözlenmiştir. Higaki ve Philip kan solüsyonları için sensitivitenin 1/ 500 000 olduğunu ve elbise lekelerinde 1/ 50 000 ile 1/ 500 000 arasında değiştiğini yayınlamışlardır (5). Hunt, Corby

ve Dodd ise ortak çalışmalarında bu testin kan solüsyonu için sensitivitesinin 1/10 000 000 olduğunu bildirmiştir (6). Grodsky, Wright ve Kirk ise bu testin kan solüsyonları için oldukça duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir (1/100 000-1/ 5 000 000) (7). Kan solüsyonları için bu farklılığın kan dilüsyonlarının hazırlanmasında ve reaktifin hazırlanmasındaki farklılıklardan kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Fenolftalein reaktifine karşı sebze ve meyve lekeleri ile pozitif reaksiyon saptanmamıştır. Cox tarafından yapılan çalışmada da fenolftalein ile çalışılan sebze ve meyve lekelerinden hiçbiri ile pozitif reaksiyon elde edilmemiştir (4). Higaki ve Philip ise fenolftaleinin taze yeşil fasulye ve bayır turpu ile pozitif reaksiyon verdiğini yayınlamışlardır (5). Aynı araştırmacılar fenolftalein testinde muhtemel bitkisel peroksidazların etkisini ortadan kaldırmak için 3 aşamalı fenolftalein testini önermişlerdir (5).

Çalışmamızda kimyasal örneklerden potasyum permanganat ile fenolftaleinin pozitif reaksiyon verdiği saptanmıştır. Fenolftaleinin bakır, potasyum ferrosiyamid, nikel ve kobalt nitratlar ile bazı sulfosiyanatlar ile pozitif sonuçlar verdiğini bildiren çalışmalar mevcut olmasına rağmen (8) çalışmamızda bakır klorür ve potasyum ferrosiyamid ile pozitif reaksiyon elde edilmemiştir.

Biyolojik örneklerin fenolftalein ile etkileşimine dair literatürde yayınlanmış çalışma olmamasına rağmen, klasik kitaplarda hayvan kaynaklı kemik iliği lökositleri, beyin dokuları, spinal sıvı, barsak, akciğer, tükürük, mukus ve cerahat ile pozitif reaksiyona girebileceği bildirilmektedir (8). Çalışmamızda biyolojik örneklerden sadece hayvan kanı ile pozitif reaksiyon elde edilmiş ve adli olay yerinde bulunması muhtemel insan kaynaklı biyolojik lekelerden tükürük, semen, ter, gaita, idrar, gözyaşı, vajinal sekresyon gibi lekelerin hiçbiri ile fenolftalein pozitif reaksiyon vermemiştir.

Lökomaşit yeşili sensitivitesinin taze kan solüsyonlarında, oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiş olan filtre kâğıdı lekeleri, nemli ve kuru ortamlarda bekletilmiş olan kumaş lekeleri ile oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiş olan kumaş lekelerinde 1/ 5 000 olduğu gözlenmiştir. Cox tarafından yapılmış olan çalışmada lökomaşit yeşili sensitivitesinin taze kan solüsyonları, filtre kâğıdı ve kumaş lekelerinde 1/5 000 olduğu tespit edilmiş olup, çalışmamızdaki sonuçlar ile uygunluk göstermektedir. (4). Grodsky, Wright ve Kirk ise bu testin kan solüsyonları için sensitivitesinin 1/ 100 000 olduğunu tespit etmişlerdir (7).

Çalışmamızda lökomaşit yeşili testi ile sebze ve meyve lekelerinin hiç birine karşı pozitif reaksiyon alınmamış olup, sonuçlarımız Cox'un (4) verileriyle uyumlu bulunmuştur.

Lökomaşit yeşili ile pozitif reaksiyon veren kimyasal maddeler arasında çeşitli metal tuzlarının olduğu literatürde bildirilmekle birlikte, çalışmamız kapsamındaki kimyasal maddelerden sadece bakır klorür ile pozitif reaksiyon elde edilmiştir (8). Potasyum ferrosiyamid ile açık yaprak yeşili renginde bir renk reaksiyonu gözlenmiş, ancak beklenen renk reaksiyonu olmadığından negatif reaksiyon olarak kabul edilmiştir.

Biyolojik örneklerin lökomaşit yeşili ile etkileşimine dair literatürde yayınlanmış çalışma olmamasına rağmen klasik kitaplarda hayvan kaynaklı kemik iliği lökositleri, beyin dokusu, spinal sıvı, barsak, akciğer, tükürük, mukus ve cerahat ile pozitif reaksiyona girebileceği bildirilmekte (8) ise de çalışmamız kapsamındaki biyolojik örneklerden sadece hayvan kanı ile pozitif reaksiyon elde edilmiştir. Buna karşın olay yerinde bulunması muhtemel insan kaynaklı biyolojik lekelerden tükürük, semen, ter, gaita, idrar, gözyaşı, vajinal sekresyon gibi lekelerin hiçbiri ile pozitif reaksiyon görülmemesi testin hayvan kanı şüphesini dikkate alarak güvenle kullanılabileceğini desteklemektedir.

Luminol ile taze kan solüsyonlarında ve bir günlük kumaş lekelerinde 1: 2 000 000 dilüsyonda dahi 2-3 saniye içinde pozitif yanıt elde edilmesi testin diğer iki teste göre duyarlılık açısından belirgin bir üstünlük gösterdiğinin kanıtıdır. Literatürde luminol sensitivitesinin 1/ 5 000 000'dan daha yüksek olduğu bildirilmektedir (9). Hatta bazı kaynaklarda luminol sensitivitesinin milyonda bir ile milyarda bir dilüsyon arasında değiştiği bildirilmektedir (10). 1: 50- 1: 10 000 (dahil) dilüsyonlar arasında tüm leke tipleri ve taze solüsyonlarda ilk saniyelerde reaksiyon alınmış olup, filtre kağıdı lekeleri ile nemli ve kuru ortamlarda bekletilmiş olan kumaş lekelerinde en son reaksiyon alınan dilüsyonun 1: 100 000 olduğu tespit edilmiştir. Luminol ile 1: 500 000, 1: 1 000 000 ve 1: 2 000 000 dilüsyonlarında kan solüsyonları ve bir günlük kumaş lekelerinde 2-3 saniye içinde luminans alınır iken, nemli ve kuru ortamda bekletilmiş kumaş lekeleri ve filtre kağıdı lekelerinde 20 saniye içinde pozitif reaksiyon alınamaması testin etkinliğinin zamanla azaldığının önemli bir göstergesidir. Nemli ve kuru ortamlarda 7 gün bekletilmiş olan kumaşlardaki kan lekelerinin luminole reaksiyon süresi ya da duyarlılık dilüsyonları arasında anlamlı fark tespit edilmemiş olması çevresel nem oranının test sonuçlarını etkilemediğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda luminol ile sebze ve meyve lekeleri arasında sadece mor lahanaya lekelenme karşı geç (60. saniyede) ortaya çıkan bir renk reaksiyonu tespit edilmiştir. Literatürde ise bitkisel peroksidadların özellikle taze patates suyundan etkilendiği bildirilmiş olmasına rağmen (11) çalışmamızda patates lekeli ile pozitif reaksiyon elde edilmemiştir.

Literatürde luminolün bazı metaller, temizleyiciler (özellikle hipoklorit), toprak, taze beyazlatıcı, ilaç solüsyonu ve araba içindeki sigara dumanı ile reaksiyona girdiği bildirilmektedir (11, 12). Literatürle uyumlu olarak

çalışmamızda bakır klorür, potasyum ferrosiyaniid, demir sülfat ve potasyum permanganat ile pozitif reaksiyon elde edilmiş olup, diğer örneklerde pozitif reaksiyon anlamına gelecek luminans gözlenmemiştir.

Biyolojik örneklerin luminol ile etkileşimine dair literatürde yayınlanmış çalışma olmamasına rağmen çok taze kan örneklerinde elde edilen luminansın zayıf olduğu ve bu nedenle lekenin eskitilmesinin luminans derecesini arttıracak şekilde bildirilmektedir(11). Oysa çalışmamızda yedi gün bekletilmiş lekelerde beklenenin aksine pozitif luminans alınmamıştır. Çalışma kapsamındaki biyolojik örneklerden sadece hayvan kanı ile pozitif reaksiyon elde edilmiş, tükürük, semen, ter, gaita, idrar, gözyaşı, vajinal sekresyon gibi diğer biyolojik lekelerin hiç biri ile pozitif reaksiyon alınmamıştır.

Kontaminasyon olmayan örneklerde fenolftalein ile normalde 1/50 000 dilüsyona kadar pozitif okumalar gözlenen çalışmamızda Türk Gıda Kodeksi'ne uygun konsantrasyonda askorbik asidin örnekler eklenmesi ile taze kan solüsyonlarında 1/1 000 dilüsyondan sonra beklenen pozitif reaksiyonun oluşmadığının saptanması askorbik asidin inhibitör etkisini ortaya koymaktadır. A.C. Ponce ve F.A.V. Pascal tarafından yapılan bir çalışmada benzer şekilde askorbik asidin kontaminant olarak etkisi çalışılmış ve taze solüsyonlarda ilk negatif okumanın 1/2 000 dilüsyonda görüldüğü, lekelerde ise 1/ 2 ile 1/ 20 000 arasındaki dilüsyonlarda kontaminasyonun reaksiyonu etkilemediğini bildirmişlerdir (1). Ancak söz konusu çalışmada luminol değerlendirilmemiştir.

Filtre kağıdına hazırlanmış olan kan lekelerinde ise aynı konsantrasyondaki askorbik asit çözeltisi ile 1/500 dilüsyondan itibaren negatif okumalar elde edilmiş, konsantrasyon standardın sekiz katına çıkarıldığında ise ilk dilüsyondan itibaren negatif okumalar gözlenmiştir. Bu bulgular

antioksidan olarak kullanılan askorbik asidin (13) redüksiyon potansiyeli ile normalde beklenen oksidasyon-redüksiyon reaksiyonunu etkileyerek bir renk oluşumunu engellediği sonucunu düşündürmektedir. Bu reaksiyonu verebilmesi için kontaminasyon kaynağının redüksiyon gücü yeterli olmalıdır. Redükte edici madde reaktifteki oksijen ile yarışa girmekte ve oksidasyonu önlemektedir. Askorbik asid hidrojen peroksid ile okside edildikten sonra da reaktifi redükte edebilmekte ve bu da reaktifin yıkımı ile hızla ortadan kaybolmasına neden olmakta ve dolayısı ile karakteristik renk reaksiyonunun ortaya çıkışını engellemektedir (2). Konsantrasyon artışı ile ortamda yarışa girecek olan redükten madde miktarı artacağından oluşacak negatif reaksiyon ihtimalinin yükselmesi daha derişik konsantrasyonlardaki artan negatif reaksiyonları izah etmektedir.

Kontaminasyon olmayan örneklerde lökomalaşit yeşili ile normalde 1/5 000 dilüsyona kadar pozitif okumalar gözlenirken Türk Gıda Kodeksi'ne uygun miktarda askorbik asit eklenen taze kan solüsyonlarında 1/100 dilüsyondan sonra beklenen pozitif reaksiyonun oluşmadığı gözlenmiştir. Standart konsantrasyonun sekiz katı konsantrasyonda ise ilk dilüsyondan itibaren pozitif okumalar elde edilmemiştir. Benzer bir çalışmada benzer şekilde askorbik asidin kontaminant olarak etkisi çalışılmış ve taze solüsyonlarda ilk negatif okumanın 1/2 000 dilüsyonda görüldüğü, lekelerde ise 1/2 ile 1/20000 arasındaki dilüsyonlarda kontaminasyonun reaksiyonu etkilemediği bildirilmiştir (2). Askorbik asid gibi güçlü redükte edici kontaminant varlığından en az etkilenen test luminol testidir. Standart konsantrasyonlarda luminol reaksiyonu değişmemektedir. Oldukça derişik konsantrasyonlarda ise luminol reaksiyonu olumsuz yönde etkilenmektedir.

## SONUÇLAR

Üç farklı ihtimali reaktif ile ilgili olarak çalışma verilerinden aşağıdaki sonuçlara ulaşılabılır:

1. Taze kan solüsyonlarında ve 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiş kumaş lekelerinde 1/2000000 ve diğer leke tiplerinde 1/100000 duyarlılık ile luminol en duyarlı tarama testidir.
2. Meyve, sebze, kimyasal ve biyolojik lekeler ile reaksiyon verme açısından en spesifik olan test fenolftaleindir. Ancak, duyarlılık açısından karşılaştırıldığında luminolün yüksek duyarlılığı spesifiklik açısından aradaki minör farkı anlamsız kılmaktadır. Luminol; fenolftaleinden farklı olarak demir sülfat, potasyum ferrosiyamid ve bakır klorür ile pozitif reaksiyon vermektedir.
3. Reaktiflerin üçü de hayvan kanı ile pozitif reaksiyon vermekte, kan dışındaki biyolojik lekeler ile pozitif reaksiyon vermemektedir.
4. Uygulama kolaylığı, yüksek duyarlılık ve spesifiklik ile sonraki kan tesderi basamaklarına olumsuz etkisinin olmadığına dair literatür verileri (14,15) de dikkate alındığında adli biyoloji laboratuvarında ve olay yeri incelemesi sırasında tercih edilecek tarama testi luminol testi olmalıdır.

Teşekkür:

*(Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin temininde yardımlarından dolayı Eczacı S. Ayhan Dıbak ve Biyoloji İhtisas Dairesi çalışanlarına teşekkür ederiz.*

## KAYNAKLAR

1. Tom Bevel, Ross M.Gardner. Bloodstain pattern analysis. CRC Press, 1997: 197-205.
2. Ana Castello Ponce, Fernando A. Verdu Pascal. Critical revision of presumptive tests for bloodstains. Forensic Science Communications, July 1999; 1(2).



3. Hancı İ.Hamit. Adli Tıp ve Adli Bilimler. Seçkin Yayıncılık, 2002; 575-610.
4. Cox, M. A study of the sensitivity and specificity of four presumptive tests for blood. Journal of Forensic Sciences, 1991; 36:1503-1511
5. Higaki R.S and Philip WMS. A study of the sensitivity, stability and specificity of phenolphthalein as an indicator test for blood. Canadian Society of Forensic Science Journal, 1976; 9-3: 97-102
6. Hunt AC, Corby C, and Dodd B.E. The identification of human stains- a critical survey. Journal of Forensic Medicine, 1960; 7: 112-130
7. Grodsky M, Wright K, and Kirk P.L. Simplified preliminary blood testing- An improved technique and a comparative study of methods. Journal of Criminal Law, Criminology and Police Science, 1951;42:95-104
8. Stuart H.James, William G.Eckert. Interpretation of Bloodstain Evidence at Crime Scenes. CRC Press, 1998; 153-169
9. Grodsky M, Wright K, Kirk PL. Simplified preliminary blood testing, an improved technique and comparative study of methods. Journal of Criminal Law, Crimonol. Police Science. 1951; 36 (3): 95-104
10. McGrath J. The chemical luminance test for blood. British Medical Journal, 1942; 2:156-157
11. Quickenden TI, Creamer JJ. A study of common interferences with the forensic luminol test for blood. Luminescence 2001, 16 (4): 295
12. Cox M. Effect of fabric washing on the presumptive identification of bloodstains. Journal of Forensic Sciences, 1990; 35(6): 1335-1341
13. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, İstanbul Ticaret Odası Yayınları 1998.
14. Dello Manno A, Montpetit S . A novel approach to obtaining reliable PCR results from luminol treated bloodstains. Journal of Forensic Sciences, 2000; 45(4): 886-890
15. Quickenden TI, Cooper PD. Increasing the specificity of the forensic luminol test for blood. Luminescence, 2001; 16 (3): 251-253

İletişim Adresi:

Dr. Yalçın BÜYÜK

Adli Tıp Kurumu, Morg İhtisas Dairesi

Esekapı/İstanbul

e-posta: [doctorbuyuk@gmail.com](mailto:doctorbuyuk@gmail.com)