

**SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

Mišel Šatrak

**BIOLOŠKI TRAGOVI I NJIHOVO SUDSKOMEDICINSKO ZNAČENJE U
KAZNENOM POSTUPKU**

Diplomski rad

Rijeka, 2015.

**SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET**

**INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE**

Mišel Šatrak

**BIOLOŠKI TRAGOVI I NJIHOVO SUDSKOMEDICINSKO ZNAČENJE U
KAZNENOM POSTUPKU**

Diplomski rad

Rijeka, 2015.

Mentor rada: Prof. dr. sc. Dražen Cuculić, dr. med.

Diplomski rad ocjenjen je dana _____ u/na _____
_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Rad sadrži __40__ stranica, __0__ slika, __0__ tablica, __15__ literaturnih navoda.

Zahvala

Veliko hvala mentoru prof. dr. sc. Draženu Cuculiću na pomoći i savjetima prilikom izrade ovog diplomskog rada, te na tome što je sudsku medicinu učinio zanimljivom i primamljivom.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	SVRHA RADA	2
3.	BIOLOŠKI TRAGOVI	3
3.1.	Nesporni uzorci.....	4
3.1.1.	Uzimanje nespornih uzoraka.....	4
3.1.2.	Postmortalni uzorci	5
3.2.	Sporni tragovi	6
3.2.1.	Tekući biološki tragovi.....	6
3.2.2.	Suhi biološki tragovi	6
3.2.3.	Biološki tragovi kod kaznenih djela protiv spolne slobode i spolnog ćudoređa.....	7
3.2.4.	Biološki tragovi koji se uzimaju brisanjem.....	7
3.2.5.	Nokti.....	7
3.2.6.	Kosa i dlake.....	8
3.2.7.	Mokraća, povraćeni sadržaj i fekalije.....	8
3.3.	Preliminarni testovi.....	9
3.3.1.	Preliminarni testovi za pronalaženje tragova krvi.....	9
3.3.2.	Preliminarni testovi za pronalaženje tragova sperme.....	10
3.3.3.	Preliminarni testovi za pronalaženje tragova sline.....	10
4.	ANTIKONTAMINACIJSKE MJERE.....	11
4.1.	Kontaminacija tragova.....	11
4.2.	Mjere samozaštite	11
5.	POHRANA BIOLOŠKIH TRAGOVA	13
6.	KRV I TRAGOVI KRVI	14
6.1.	Oblici tragova krvi.....	14
6.1.1.	Tragovi nastali slijevanjem krvi	15
6.1.2.	Tragovi nastali kapanjem i prskanjem krvi	15
6.1.3.	Tragovi nastali prijenosom krvi	16

6.2.	Identifikacija krvi	16
6.3.	AB0 tipizacija	16
6.4.	Određivanje MN faktora.....	17
6.5.	Rh faktor	17
7.	SPERMA I TRAGOVI SPERME	19
8.	DLAKE I KOSA	21
9.	SLINA	23
10.	DNA ANALIZA	24
10.1.	Vrste DNA analize	25
10.1.1.	RFLP analiza	25
10.1.2.	STR-PCR analiza.....	26
10.1.3.	Mitohondrijska DNA (mtDNA)	27
10.1.4.	Profiliranje spolnih kromosoma	27
10.1.5.	Polimorfizam jednog nukleotida (SNP)	28
10.2.	Uloga DNA analize u rješavanju slučajeva silovanja	29
10.3.	Uloga DNA analize u utvrđivanju počinitelja kaznenih dijela	29
11.	RASPRAVA.....	30
12.	ZAKLJUČCI	33
13.	SAŽETAK.....	36
14.	SUMMARY	37
15.	LITERTATURA	38
16.	ŽIVOTOPIS	40

POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

MBG – matični broj građana

PSA – prostata specifični antigen

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (deoxyribonucleic acid)

RSID – brzi testovi za identifikaciju mrlja (rapid stain identification series)

PCR – lančana reakcija polimerazom (polymerase chain reaction)

VNTR – promjenjivi broj ponavljajućih nizova (variable number tandem repeats)

RFLP – polimorfizam dužina restrikcijskih fragmenata (restriction fragment length polymorphism)

STR – kratki ponavljajući nizovi (short tandem repeats)

SNP – polimorfizam jednog nukleotida (single nucleotide polymorphism)

Blood spatter analysis – analiza kapljica krvi

1. UVOD

Tragovi koji potječu od ljudi, životinja i biljaka su biološki tragovi. Biološki tragovi vezani uz kaznena djela su uglavnom ljudskog porijekla. Vještačenjem se određuje pripadnost tih tragova, tj. pripadaju li ti tragovi ljudima, životinjama ili biljkama, te se određuje broj osoba koje su sudjelovale u počinjenju nekog kaznenog djela. Budući da iz nekih bioloških tragova možemo izolirati DNA, možemo napraviti DNA profile, usporediti ih sa DNA profilima žrtve i osumnjičene osobe ili osumnjičenih osoba te na temelju podudaranja neku osobu ili osloboditi krivnje ili podvrgnuti kaznenom progonu. Prilikom sakupljanja bioloških tragova treba provoditi mjere samozaštite i antikontaminacijske mjere da bi se spriječilo onečišćenje bioloških tragova te samim time omogućila pravilna obrada uzoraka te pravedno suđenje.

2. SVRHA RADA

Svrha ovog rada je prikazati vrste bioloških tragova s kojima se možemo susresti na mjestu zločina. Nadalje se prikazuju mogućnosti njihove identifikacije te načina uzimanja uzoraka sa mjesta zločina i njihova pohrana do vještačenja. U ovome radu prikazane su metode koje se koriste u vještačenju tragova, te metode koje se koriste za DNA profiliranje, a sve u svrhu uspješnije identifikacije počinitelja kaznenog djela.

3. BIOLOŠKI TRAGOVİ

Biološki tragovi predstavljaju bilo koji trag koji je ljudskog, životinjskog ili biljnog porijekla. Tragovi koji su najčešće predmet sudskomedicinskog i biološkog ispitivanja u kriminalističke svrhe su ljudskog porijekla. Najčešći biološki tragovi su dlake i kosa, krv i tjelesni sekreti. Tjelesni sekreti ljudskog porijekla mogu biti s površine ljudskog tijela (znoj, izlučine slušnih kanala, izlučine nosne sluznice i suze), sekreti iz probavnog trakta (fekalije), sekreti iz bubrega (mokraća), sekreti iz spolnih organa (u muškaraca sperma, a u žena sekreti za vrijeme menstruacije, porođaja, babinja) te sekreti novorođenčeta.

Biološki tragovi ljudskog porijekla se mogu podijeliti na one koji sadrže DNA i na one koji ne sadrže. DNA (deoksiribonukleinska kiselina) se može naći u gotovo svakoj stanici u organizmu, u jezgri (nukleusu) i u mitohondrijima. Molekula DNA građena je u obliku dvostruke uzvojnice, a sastavljena je od nukleotida. Nukleotidi su sastavljeni od šećera deoksiriboze, fosfata i četiri različite dušične baze. Purinske baze su adenin (A) i gvanin (G), a pirimidinske baze su timin (T) i citozin (C). Ukupna jezgrina DNA je smještena u kromosomima.

Kromosomska DNA se može izolirati iz krvi, sperme, epitelnih stanica kože, ovojnice korijena vlasi i dlaka, tkiva, zuba, kosti, sline, mokraće i stolice. DNA se ne može dobiti iz seruma, suza, znoja zbog toga jer ti biološki tragovi nemaju stanica s jezgrom.

Za potvrđivanje od koga potječu sporni tragovi, potrebno je imati nesporne (referentne) uzorke za usporedbu. (1,2,3)

3.1. Nesporni uzorci

Nesporni uzorci su oni uzorci koji se uzimaju od osumnjičenih, oštećenih i svih ostalih osoba koje su mogle doći u kontakt sa tragovima ili predmetima na mjestu zločina, a služe za isključenje. To su nesporni uzorci krvi, stanica usne šupljine, te iznimno vlasi ili dlake.

3.1.1. Uzimanje nespornih uzoraka

Nesporni uzorak krvi se uzima tako da se četiri do pet kapi krvi iz jagodice prsta uzme na filter karticu. Filter kartica se zatim suši na sobnoj temperaturi i pakira u papirni omot.

Nesporni uzorak stanica usne šupljine se uzima tako da se nakon ispiranja usne šupljine vodom papirnatim štapićem nekoliko puta protrlja bukalna sluznica. Nakon uzimanja uzorka, potrebno je štapić osušiti na sobnoj temperaturi te ga pohraniti u papirni omot.

Nesporni uzorak kose ili dlaka se uzima kada je to potrebno. Uzima se 15 vlasi kose ili dlaka za potrebe specifičnih vještačenja (kaznena djela protiv spolne slobode i spolnog ćudoređa, vještačenje morfologije kose i dlaka). Vlasi ili dlake treba staviti na čisti bijeli papir, zamotati u papir te pohraniti u papirni omot.

Prema važećem Pravilniku o načinu uzimanja uzoraka biološkog materijala i provođenja molekularno – genetske analize (NN 120/14) doktor medicine ili drugi zdravstveni djelatnik u nazočnosti ovlaštene službene osobe Ministarstva unutarnjih poslova uzima uzorak krvi ubodom u jagodicu prsta na filter karticu; za potrebe molekularno-genetske analize, s mrtvog tijela se izuzimaju dostupni uzorci, ovisno o stanju mrtvog tijela (uzorak krvi na filter karticu ili u epruvetu s antikoagulansom, uzorak mekog tkiva, uzorak zubi i/ili uzorak kosti); ukoliko predstavlja jedini dostupan uzorak, za molekularno-genetsku analizu pogodno je i tkivo iz parafinskog bloka. (2,4)

3.1.2. Postmortalni uzorci

Postmortalni uzorci su uzorci koji se uzimaju sa tijela post mortem, a služe za identifikaciju pronađenog mrtvog tijela. Vrsta uzorka koji se uzima ovisi o vremenu koje je prošlo od smrti do obdukcije te u kakvim je uvjetima tijelo bilo od trenutka smrti. Mrtvo tijelo koje je bilo u hladnim uvjetima (zaleđeno, na snijegu ili ledu, na temperaturama ispod 0°C) dat će uzorke krvi ili mišićnog tkiva koji će biti pogodni za vještačenje i nakon dužeg vremenskog perioda. Ako je od smrti do uzimanja uzoraka prošlo manje od četiri dana uzima se ili uzorak krvi na filter karticu ili vatenim štapićem iz tjelesne šupljine. Uzorak se suši na sobnoj temperaturi i pakira u papirnati omot. Ako je od smrti prošlo više od četiri dana, a do propadanja mišićnog tkiva, uzima se komad mišićnog tkiva volumena oko 3 cm³ iz dubljih dijelova mišića. Uzorak se pakira u sterilnu plastičnu epruvetu ili posudu, zamrzava i u najkraćem vremenskom periodu u prijenosnoj ledenici dostavlja na vještačenje. Nakon propadanja mišićnog tkiva uzima se dio bedrene kosti duljine oko 10 cm ili 3 do 5 zdravih zuba. Uzorak se zatim pakira u sterilnu plastičnu epruvetu ili posudu, zamrzava te se u najkraćem vremenskom periodu u prijenosnoj ledenici dostavlja na vještačenje. Obducent uzima sve postmortalne uzorke za identifikaciju za vrijeme obdukcije. (2)

3.2. Sporni tragovi

Sporni tragovi su tragovi koji su pronađeni na mjestu zločina, na predmetima ili osobama koje su povezane s mjestom zločina ili počinjenim kaznenim djelom. Oni mogu biti u tekućem ili sasušenom stanju, a to su najčešće tragovi krvi, sperme, pljuvačke.

3.2.1. Tekući biološki tragovi

U tekućem obliku možemo pronaći tragove krvi, sperme, pljuvačke, sekret iz nosa, iskašljaj. Tekuće biološke tragove uzimamo, ako je moguće, s podlogom, zatim sušimo na sobnoj temperaturi te spremamo u papirnati omot. Biološke tragove koje nije moguće uzeti sa podlogom ili podloga nepovoljno utječe na sam trag, uzimamo tako da sterilni vateni štapić prislonimo na trag te što manje zadiremo u podlogu. Štapić sušimo na sobnoj temperaturi te pakiramo u papirnati omot.

3.2.2. Suhi biološki tragovi

Suhi biološki tragovi koje možemo pronaći su tragovi krvi, sperme, pljuvačke, sekreta iz nosa, iskašljaj. Uzimaju se s podlogom na kojoj se nalaze (odjeća, opušci, žvakaće gume, čačkalice, četkice za zube, maramice), suše se na sobnoj temperaturi te pakiraju u papirnati omot. Biološke tragove koje nije moguće uzeti sa podlogom ili podloga nepovoljno utječe na sam trag, uzimamo pomoću sterilnog štapića navlaženog destiliranom vodom. Štapić sušimo na sobnoj temperaturi te pakiramo u papirnati omot. Ako je podloga na kojoj se nalazi biološki trag porozna ili upijajuća, a trag se ne može uzeti u cijelosti, trag uzimamo izrezivanjem dijela podloge očišćenim škalicama ili izrezivanjem i struganjem pomoću očišćenog skalpela te pakiramo u papirnati omot. Sitne tragove i strugotine prvo stavljamo u bijeli papir i onda pakiramo u papirnati omot.

3.2.3. Biološki tragovi kod kaznenih djela protiv spolne slobode i spolnog ćudoređa

U najkraćem vremenu od trenutka počinjenja kaznenog djela potrebno je uzeti biološke tragove od oštećene i osumnjičene osobe. Posebno se uzimaju i pakiraju tragovi od oštećene osobe, a posebno od osumnjičene osobe. Gaćice osumnjičene osobe potrebno je spremati u posebni papirnati omot. Biološke tragove uzima doktor medicine ili drugi zdravstveni djelatnik koji se potpisuje na omot. Na omot se upisuje ime i prezime, MBG, naziv medicinske ustanove u kojoj su tragovi uzeti, datum i vrijeme kada su uzeti, ime i prezime te potpis osobe koja je uzela tragove. Na sterilne vatene štapiće se uzimaju brisevi spolovila (vaginalni, rektalni, oralni, bris vanjskog djela spolovila), spremaju u kartonski omot, obilježavaju i dostavljaju na vještačenje. U sterilnu plastičnu epruvetu ili posudu se sprema prezervativ s tekućima sadržajem te se u prijenosnoj ledenici u najkraćem vremenskom periodu dostavlja na vještačenje.

3.2.4. Biološki tragovi koji se uzimaju brisanjem

Kod predmeta koji su nađeni na mjestu zločina, a mogu se dovesti u vezu sa počiniteljem ili načinom počinjenja kaznenog djela se mogu naći tragovi epitela. S obzirom na vrstu predmeta na kojem se trag nalazi, možemo ih uzimati u cijelosti (opušci, papirnate maramice, žvakaće gume, čaše, boce, noževi, alati) ili se s njih sterilnim vatenim štapićem uzimaju brisevi. Bris se uzima trljanjem sterilnog vatenog štapića, koji je navlažen destiliranom vodom po hrapavim dijelovima i rubovima, jer tu zastaju epitelne stanice. Vateni štapić sušimo na sobnoj temperaturi i spremamo u papirnati omot.

3.2.5. Nokti

Nokti se uzimaju rezanjem dobro očišćenim škalicama, na čisti bijeli papir. Zatim se zamota u papir i sprema u papirnati omot.

3.2.6. Kosa i dlake

Kosa i dlake pronađene na mjestu zločina uzimaju se čistim jednokratnim rukavicama, stavljaju na čisti bijeli papir, zamataju u papir i spremaju u papirni omot.

3.2.7. Mokraća, povraćeni sadržaj i fekalije

Tragovi mokraće se uzimaju samo ako su pronađeni u većoj količini (najmanje 10mL) u posudi/kanti/čaši/boci. Ne uzimaju se tragovi mokraće koji su pronađeni na površinama ili upijeni tragovi mokraće.

Povraćeni sadržaj se uzima samo kada je to iznimno potrebno i to brisanjem vatenim štapićem ili struganjem s podloge, ovisno o tome da li je trag u tekućem ili suhom obliku.

Fekalije se ne uzima niti dostavlja na vještačenje. (2)

3.3. Preliminarni testovi

Vizualnim pregledom mjesta zločina, predmeta, odjeće i drugih tragova pronalazimo biološke tragove. Ukoliko su tragovi oskudni, isprani ili imamo tragove epitela bez pomoći preliminarnih testova vrlo ih je teško zamijetiti ili nemoguće pronaći. Preliminarni testovi se temelje na kemijskim, fizikalnim ili enzimskim reakcijama. To je orijentacijska proba i upućuje na postojanje traga no ne i na njegovo porijeklo. Tragove koji preliminarnim testovima daju pozitivne rezultate, treba uzeti i poslati na vještačenje, gdje će se utvrditi njihovo porijeklo.

3.3.1. Preliminarni testovi za pronalaženje tragova krvi

Fenolftalein test ili Kastle Meyer test koristi se za dokazivanje moguće prisutnosti krvi. Bazira se na peroksidaznoj reakciji hemoglobina koji producira roza obojenje. To je preliminarni test jer daje lažno pozitivne rezultate sa slinom, gnojem, ekstraktom slada, ekstraktima povrća i solima nekih teških metala.

Luminol test se koristi na velikim površinama. Luminol reagira s hematinom i luminiscira svijetloplavo, što je najbolje vidljivo u mraku. Luminiscencije traje nekoliko minuta. Stariji tragovi krvi svijetle jače i dulje nego svježa krv. Daje lažno pozitivne rezultate u prisutnosti soli bakra te sa legurama koje sadrže bakar (mesing, bronca).

Alternativni izvori svjetla, kao CrimeScope koriste UV, vidljivo i infracrveno svjetlo da izazovu određene tvari da fluoresciraju (svijetle) ili apsorbiraju svjetlo (potamne). Tragovi krvi će na određenim valnim duljinama potamniti.

3.3.2. Preliminarni testovi za pronalaženje tragova sperme

Test kisele fosfataze ili Walker test ili Brentamine spot test. Prostata proizvodi velike količine enzima kisele fosfataze i izlučuje ga u spermu. U prisutnosti Alpha-Naphtyl kisele fosfataze i Brentamine Fast Blue-a, alkalna fosfataza producira tamnoljubičasto obojenje za manje od minute. Nijansa ljubičaste zavisi od aktivnosti enzima, što znači da starost traga i uvjeti čuvanja imaju negativan utjecaj. Vaginalni sekreti i tjelesne izlučevine sadrže također sadrže alkalnu fosfatazu.

Prostata specifični antigen test detektira PSA (prostata specifični antigen). PSA u velikim količinama producira prostata. PSA se može pronaći u malim količinama u fecesu i znoju, a također ga je moguće pronaći u urinu žena i majčinom mlijeku.

Alternativni izvori svjetla, kao Polilight koriste UV, vidljivo i infracrveno svjetlo da bi izazvali fluorescenciju sperme. Ovisno o vrsti svjetla, boja varira od žute do plave. Ova metoda je preliminarna jer mnoge prirodne i umjetne molekule fluoresciraju jednako kao sperma. Jednako tako neće sve mrlje sperme fluorescirati. Izloženost raznim uvjetima okoliša, raznim materijalima može utjecati na fluorescenciju.

3.3.3. Preliminarni testovi za pronalaženje tragova sline

Phadebas test je test koji koristi kemijski reagens Phadebas za detekciju aktivnosti enzima alfa amilaze, koji se nalazi u slini. Alfa amilaza se može naći i u drugih organizama. Građa i funkcija alfa amilaze bakterija, gljiva, čimpanza je vrlo slična ljudskoj alfa amilazi. Test je preliminaran jer će rezultat biti pozitivan u prisutnosti alfa amilaze. (2,5)

4. ANTIKONTAMINACIJSKE MJERE

4.1. Kontaminacija tragova

Kontaminacija bioloških tragova je moguća u svim dijelovima istrage, tj. prilikom pretrage mjesta zločina, prilikom obavljanja očevida, pronalaska, uzimanja, sušenja te pakiranja bioloških tragova. Tragove je moguće kontaminirati stranim biološkim materijalom (od osoba koje uzimaju uzorke), međusobnim kontaktom spornih tragova te međusobnim tragom spornih tragova i nespornih uzoraka.

Sve osobe prisutne na mjestu zločina moraju nositi propisanu zaštitnu opremu; jednokratne rukavice, masku za lice, kapu, kombinezon i nazuvke za obuću. Prilikom uzimanja pojedinih tragova potrebno je mijenjati rukavice. Predmeti i tragovi oštećene osobe ne smiju doći u kontakt sa predmetima i tragovima osumnjičene osobe i mjesta zločina. Tragovi se uzimaju pojedinačno i pakiraju u zasebne omote. Gdje god je to moguće, potrebno je koristiti pribor za jednokratnu upotrebu. Pribor koji nije za jednokratnu upotrebu, potrebno je između svake upotrebe više puta prebrisati vatom navlaženom 70%-tnim etanolom.

4.2. Mjere samozaštite

Biološki materijal pronađen na mjestu zločina je potrebno tretirati kao potencijalno infektivan; zaražen HIV-om, hepatitisom A, B, C te ostalim bakterijskim, virusnim ili inim uzročnicima bolesti. Uz korištenje mjera zaštite od kontaminacije tragova, potrebno je koristiti i mjere samozaštite. Ukoliko imamo bilo kakvu otvorenu ranu na ruci, ona mora biti zaštićena vodonepropusnim omotom i rukavicama. Ruke treba prati često, prije početka i nakon obrade jedne cjeline, te nakon završetka cjelokupne obrade. Za vrijeme uzimanja bioloških tragove se ne smije jesti i piti. Ako sumnjamo da osoba od koje potječu biološki tragovi (sporni tragovi ili

nesporni uzorci) boluje od infektivne bolesti, potrebno je to naznačiti na svim omotima u koje se pakiraju sporni tragovi i nesporni uzorci te je to potrebno navesti u nalogu za vještačenje. (2,6,7)

5. POHRANA BIOLOŠKIH TRAGOVA

Svi biološki tragovi su izrazito osjetljivi na uvjete u kojima se nalaze. Ukoliko se nalaze u nepovoljnim uvjetima brzo dolazi do njihove degradacije, te nemogućnosti daljnjeg vještačenja, te ih je zbog toga potrebno u najkraćem vremenu uzeti, osušiti i pohraniti. Nepovoljni uvjeti u kojima se biološki tragovi mogu nalaziti su voda, vlaga, kiša, visoka temperatura, grijaća tijela, sunčeva svjetlost i ostale vrste zračenja te podloge koje nepovoljno utječu na očuvanje bioloških materijala kao zemlja, asfalt, beton, zid, cigla, trava, lišće, nelakirano drvo, korodirane površine, guma, prirodna i umjetna koža. Biološke tragove treba, prije vještačenja, čuvati na suhom, prozračnom, hladnom i tamnom mjestu. Ukoliko je tragove nemoguće osušiti, potrebno ih je zamrznuti i u prijenosnoj ledenici u najkraćem mogućem vremenu poslati na vještačenje. (2)

6. KRV I TRAGOV I KRV I

Forenzička hematologija bavi se određivanjem krvnih svojstava, bilo da je riječ o svježoj krvi ili o tragovima krvi, na mrtvim ili živim osobama, u svrhu identifikacije u kaznenim i građanskim postupcima. Identifikacija krvi i tragova krvi je ključna u istragama ubojstva te korisna u slučajevima napada, seksualnog zlostavljanja i provala. Prisutnost krvi na dokaznim predmetima je kritična u uspostavljanju krivnje ili nevinosti u kaznenom postupku. Interpretacija tragova krvnih mrlja može biti korisna u određivanju kako je krv završila na predmetu ili mjestu zločina te tako pomoći u rekonstrukciji mjesta zločina.

Osobine krvi umrlih osoba određuju se kad postoji mogućnost da će tragovi njihove krvi biti negdje pronađeni, pa nam to može poslužiti za usporedbu. U umrlih osoba se rutinski određuje krvna grupa u slučajevima ubojstava, sumnjivih samoubojstava, prometnih nesreća gdje je vozilo nepoznato. Također određivanje krvnih osobina može poslužiti za identifikaciju umrlih osoba.

U živih osoba krvne grupe se određuju kada je potrebno usporediti osobine njihove krvi s pronađenim tragovima. To se radi kod slučajeva ozljeđivanja, prometnih nesreća, silovanja, provala prilikom kojih je počinitelj ozljeđen. Krv živih osoba se uzima i kod građanskih postupaka, zbog identifikacije očinstva, bilo da je riječ o izvanbračnoj djeci koja nekog tuže radi priznavanja očinstva ili plaćanja alimentacije, zatim kad je riječ o bračnoj djeci, a tada suprug nastupa kao tužitelj koji smatra da dijete nije njegovo.

6.1. Oblici tragova krvi

Po načinu nastanka razlikujemo tri tipa tragova krvi:

Tragove nastale slijevanjem niz tijelo kada nastaje prugasti trag od izvora prema dolje, upije se u odjeću ili se nakuplja na podlozi u obliku lokve.

Tragove nastale kapanjem krvi s visine pri čemu nastaju kapi zbog djelovanja sile teže ili prskanjem uvis ili stranu pri čemu nastaju prskotine.

Tragove nastale prijenosom krvi dodirrom na drugi predmet te tako nastaju otisci ili brisotine.

6.1.1. Tragovi nastali slijevanjem krvi

Pruge krvi nastaju curenjem krvi iz izvora djelovanjem sile teže prema dolje. Temeljem tih pruga moguće je rekonstruirati položaj ozlijeđenog dijela tijela te tako zaključiti da li je ozlijeđena osoba nakon zadobivenih ozljeda stajala, hodala, odnosno pala.

Kada je izvor krvarenja u predjelu odjeće ili kada se krv slijeva do odjevnog predmeta nastaje prožimanje krvi, te tada krv bude djelomično upijena u tkaninu, a djelomično se širi prema zemlji.

Lokva krvi je posljedica obilnijeg krvarenja na podlogu iz rana na tijelu koje miruje. Oblik i veličina ovise o količini krvi, ravnini podloge te svojstvima podloge.

6.1.2. Tragovi nastali kapanjem i prskanjem krvi

Kap krvi nastaje jednostavnim kapanjem s visine djelovanjem sile teže. Oblik same kapi, odnosno njezino rasprskavanje upućuje na visinu i smjer padanja kapi. Ukoliko kap pada okomito na podlogu razlije se jednako u svim smjerovima. Što je kut padanja kapi manji to je kap više dispergirana sa satelitima u smjeru suprotnom od smjera padanja kapi. Prskotine nastaju prskanjem uvis ili u stranu aktivnom silom, primjerice zamahom zakrivljenim predmetom, prskanjem iz arterije.

6.1.3. Tragovi nastali prijenosom krvi

Prijenosom krvi nastaju otisci prstiju, dlana, stopala, gume vozila te mogu imati individualne značajke što može pomoći u identifikaciji počinitelja kaznenog djela. Brisanjem ili slučajnim povlačenjem dijela tijela ili predmeta po drugom dijelu tijela ili predmeta nastaju brisotine. (1,2,8)

6.2. Identifikacija krvi

Krv je jedna od najčešćih tjelesnih tekućina pronađenih na mjestu zločina, posebice na mjestima nasilnih zločina. Krv i krvne mrlje se na ljudima i predmetima ili mjestu zločina moraju tražiti veoma pažljivo, jer raznim fizikalnim i kemijskim čimbenicima mijenjaju svoj izgled i boju.

Pri sumnji na krv prvo ispituje se da li je uopće riječ o krvi ili o nekoj drugoj obojenoj tvari. Koristimo se preliminarnim testovima, kojima zapravo dokazujemo hemoglobin u krvi. U uporabi su fenolftalein, luminol test, te upotreba alternativnih izvora svjetla. Nakon toga određujemo podrijetlo krvi, odnosno određujemo da li je krv ljudska ili životinjska.

Podrijetlo krvi se dokazuje serološki, upotrebom precipitinskih seruma. Krv sadrži različite proteine koji variraju među vrstama, što znači da se u prisutnosti stranih proteina proizvode antitijela. Serum za precipitacijski test se dobiva od zečeva, koji su proizveli protutijela na malu količinu ljudske krvi koja im je ubrizgana. Tako dobiveni serum se zatim dodaje suspektnoj krvi. Ukoliko je krv ljudskog podrijetla, u serumu će se precipitirati proteini, što je vidljivo golim okom. (1,9)

6.3. AB0 tipizacija

Prije uvođenja DNA u forenziku, druge metode su razvijene za povezivanje bioloških tragova sa osobama. Najčešća od tih metoda je AB0 tipizacija krvnih grupa. AB0 tipizacija određuje

specifične antigene prisutne na površini krvnih stanica. A i B antigeni su dominantni, dok je antigen 0 recesivan. Ti se antigeni nalaze u stanicama, dok se u serumu nalaze njihova prirodna protutijela. Kada se u stanicama nalazi antigen A, u serumu se nalazi protutijelo za antigen B, te kad u stanicama imamo antigen B, u serumu imamo protutijela za antigen A. Ako u stanicama imamo antigene A i B, u serumu neće biti nikakvih protutijela, dok kod osoba koje u stanicama imaju antigen 0, u serumu nalazimo protutijela za antigen A i B. Antigeni se kod krvnih grupa nazivaju aglutinogeni, a protutijela u serumu aglutinini. S obzirom na aglutinogen u stanicama, razlikujemo četiri krvne grupe: krvnu grupu A, krvnu grupu B, krvnu grupu AB i krvnu grupu 0. Približno 40% populacije ima krvnu grupu A, dok drugih 40% populacije ima krvnu grupu 0. AB0 tipizacija zahtijeva veći uzorak za točno testiranje, puno više nego što je potrebno za sadašnje DNA tehnike. Neki laboratoriji koriste AB0 tipizaciju kao isključivi alat u slučajevima kada je dostupna velika količina uzorka. Međutim, s razvojem bržih i točnijih DNA metoda, većina forenzičkih laboratorija je prestala koristiti AB0 testiranje.

6.4. Određivanje MN faktora

Nakon otkrića AB0 krvnih grupa, u stanicama su otkrivena još dva antigena, te su ih nazvali M i N. Prema prisutnosti tih antigena, razlikujemo tri krvne grupe u ljudi: M, N i MN. Osobe s krvnom grupom M i krvnom grupom N su homozigoti, dok su osobe s krvnom grupom MN heterozigoti. Homozigoti su osobe koje na kromosomskom paru imaju ili oba gena M ili oba gena N. Osobe koje na kromosomskom paru imaju gen M i gen N su heterozigoti.

6.5. Rh faktor

Rh antigen je tako nazvan prema majmunu Rhesus macacus u čijim se stanicama nalazi isti antigen kao i u čovjeka. Osobe dijelimo na Rh+ i Rh-, odnosno na osobe koje taj antigen imaju i nemaju. Kasnije je otkriveno da nije riječ o jednom antigenu, već da postoji 6 antigena, a 3 se

nalaze na istom kromosomu. Ti antigeni se označuju velikim i malim slovima: D, d, C, c, E, e; i nazivaju se podskupinama Rh faktora. Podjela osoba na Rh⁺ i Rh⁻ se bazira na prisutnosti D antigena. Antigeni Rh podskupina u normalnim uvjetima nemaju svojih protutijela u serumu, no ako osoba dobije krv prilikom transfuzije, mogu se stvoriti protutijela. Kako se na svakom kromosomu nalaze tri gena Rh podskupina, moguće je osam kombinacija po tri gena:

CDE Cde

CDe Cde

cDE cdE

cDe cde

Od tih kombinacija na svakom kromosomskom paru se nalaze po dvije, odnosno po tri gena na svakom kromosomu. Četiri kombinacije pripadaju Rh⁺, a četiri Rh⁻. (1,5,9,10)

7. SPERMA I TRAGOVI SPERME

Sperma se obično nađe na mjestima seksualnog zlostavljanja ili drugim seksualno motiviranim zločinima i igra ključnu ulogu u identifikaciji počinitelja i povezuje ga s mjestom zločina. Sperma je tjelesna tekućina koju produciraju muškarci u svrhu oplodnje. U forenzičke svrhe, sastav sperme se može pojednostaviti u dva dijela: sjemena tekućina i spermiji. Sjemena tekućina je proteinima bogata tjelesna tekućina prvenstveno podrijetla iz prostate i sjemenih mjehurića. Spermiji su muške gamete, ili spolne stanice, koje produciraju testisi. U jednom ejakulatu sperme ima otprilike 250 milijuna spermija, što čini spermu idealnom za DNA profiliranje.

Spermu možemo tražiti u rodnici žene, žive ili mrtve, na tijelu blizu spolovila, s tragova posteljine, odjeće, papirnatih maramica, prezervativa. Spermiji se u rodnici žive žene mogu dokazati 34-42 sata nakon snošaja. Trajanje života spermija u rodnici ovisi o fazi menstrualnog ciklusa žene, no obično je to između 5 i 20 sati. U rodnici leša spermije možemo dokazati 30 sati do 3 tjedna nakon smrti žene. Ukoliko u rodnici ne nađemo spermu, to ne isključuje spolni odnos.

Presumptivni testovi za dokazivanje sperme su test kisele fosfataze, prostata specifični antigen test te upotreba alternativnih izvora svjetlosti. Ultraljubičasta svjetlost s tamnoplavim filtrom uzrokuje da mrlje sperme fluoresciraju plavoljubičasto.

Potvrđni testovi za dokazivanje sperme su Christmas tree stain i RSID (Rapid Stain Identification Series) test za spermu.

Christmas tree stain se koristi za vizualnu identifikaciju sperme. Koristi dva reagensa koji u kombinaciji produciraju karakterističnu mrlju. Pikroindigokarmin boji vrat i rep spermija u zelenu i plavu, dok Nuclear Fast Red boji glavu spermija crveno. Spermiji propadaju brzo nakon

ejakulacije, te njihovo preživljenje uvelike ovisi o okolini i o vrsti podloge. Rep spermija je najpodložniji propadanju, te je potrebno razlikovati glave spermija od ostalih stanica, jer se i druge stanice boje crveno.

RSID test za spermu identificira antigen specifičan za sjemeni mjehurić ili semonogelin. Taj antigen je specifičan za ljudsku spermu, te tako nema križne reakcije sa drugim tjelesnim tekućinama muškaraca i žena ili sa spermom drugih sisavaca. Test također može identificirati spermu iz mrlja koje su bile i u lošim uvjetima. (1,5,10,11)

8. DLAKE I KOSA

Dlake i kosa su najčešći tip dokaza koji se nađe na mjestu zločina. Tijekom normalnog ciklusa rasta kose, ona ispada te se tako lako prenese tijekom kriminalne radnje. Forenzička analiza kose i dlake može biti od iznimne važnosti u ispitivanju fizičkih dokaza tako da pokazuje da možda postoji povezanost između osumnjičenika i mjesta zločina ili osumnjičenika i žrtve; ili pokazuje da nema dokaza za povezanost osumnjičenika i mjesta zločina ili osumnjičenika i žrtve. Iako mikroskopskom analizom kose i dlaka nećemo postići identifikaciju, možemo zaključiti da je dlaka došla od jedne osobe isključujući druge te nam ogromna količina i mikroskopskih i makroskopskih informacija koje su dostupne analizom kose i dlaka pruža jake oslobađajuće dokaze.

Ispitivanje kose i dlaka uključuje usporedbu i analizu morfoloških karakteristika kose. S obzirom na morfologiju možemo zaključiti da li je dlaka ili kosa ljudskog ili životinjskog porijekla. Unutar tih dviju grupa mikroskopskom analizom možemo saznati dodatne podatke o potencijalnom donoru. Konačno, možemo i analizirati uzorak nepoznatog porijekla sa uzorcima kojima znamo porijeklo.

Tijekom ispitivanja ljudske kose i dlake najprije se obavljaju makrometrijska i makroskopska, a zatim mikroskopska ispitivanja. Makrometrijski i makroskopski se određuje broj uzoraka, oblik, duljina, promjena pigmentacije i boja. Mikroskopski ispitujemo osnovne dijelove dlake: kutikulu, medulu, debljinu i utvrđujemo prisutnost nečistoća. Izbjeljivanje kose vodikovim peroksidom se dokazuje diazoreakcijom, te se kosa koja je izbjeljivana, oboji crveno. Bojenjem kose boja se raspodjeljuje po površini vlasi, dok se kod prirodne kose pigment nalazi u dubini, te se prema

meduli povećava. U svijetle kose pigment je raspodijeljen difuzno, dok je u tamne kose poredan u redove.

Vlas kose je cijelom svojom duljinom približno jednake debljine, ovalnog ili okruglog presjeka. Dlaka promjera većeg od 0,14 mm nije više kosa. Stidne dlake i dlake ispod pazuha su kraće od kose, kovrčavije i deblje. Njihov presjek je bubrežast ili trokutast. Zbog djelovanja znoja im je kutikula oštećena. Dlake brade su često kovrčave i deblje su od kose. Trepavica ima vretenast i lagano povijen oblik.

Kemijskim metodama je nemoguće razlikovati kosu muškarca od kose žene, međutim metodom DNA iz kose, i iz bilo kojeg dijela tijela, je moguće odrediti spol. Ponekad je kosu žene moguće razlikovati od kose muškarca na temelju duljine, kozmetičke obrade, kovrčanju, toniranju, bojenju. U novorođenčadi je kosa tanka, nema medulu i rub kutikule je slabo izražen. Kako starimo, u kosi se smanjuje količina pigmenta te se povećava primanje zraka i zbog toga kosa posivi.

Pregledom razlikujemo da li je kosa prekinuta ili odrezana. Otrgnuta kosa je izduljena, rubovi kutikule su pomaknuti zasebno, a medula je na mjestu prekida sužena. Odrezana kosa ima oštre rubove koji se nakon nekoliko tjedana zaoble. Prema korijenu kose se zaključuje da li je kosa ispala ili je iščupana. Korijen iščupane kose može biti oblika sjekire i biti kao obavijen u ovojnici ili može biti oblika tikvice oko koje se nalazi tkivo. Oko takvog iščupanog korijena se nalaze kapljice krvi i tkivo. Kosa koja je ispala ima stanjen, osušen korijen bez kapljica krvi i bez tkiva.

Kada određujemo pripada li uzorak kose nekoj osobi moramo ispitivati uzorke uzete s različitih dijelova glave i dobivene rezultate međusobno usporediti da utvrdimo da li se rezultati međusobno podudaraju ili razlikuju. (1,12)

9. SLINA

Slinu možemo naći na opušcima cigareta, rupčićima, odjeći. Dokazuje se probom na alfa amilazu. Nakon toga određujemo krvnu grupu, zbog toga jer u slini nalazimo aglutinogen AB0 te anti-A i anti-B aglutinine. Krvnu grupu ćemo moći odrediti u 85% osoba, jer su te osobe tzv. sekretori.

Prikupljanje uzorka sline od osumnjičene osobe je najčešći način prikupljanja uzoraka prilikom obavljanja DNK analize i usporedbe. Vatenim štapićem se uzme obrisak bukalne sluznice te se tako skupi slina i epitelne stanice. Slina nam je od velikog značaja ako ju nađemo na mjestu zločina, na žrtvi seksualnog napada, na opušku cigarete ili oko ruba čaše ili boce. (1,10,11)

10. DNA ANALIZA

DNA molekula građena je u obliku dvostruke uzvojnice te je smještena u kromosomima. osnovna građevna jedinica DNA je nukleotid, koji pak je građen šećera deoksiriboze, fosfatne skupine i baze. Razlikujemo četiri baze: adenin (A), gvanin (G), citozin (C) i timin (T). U dvostrukoj uzvojnici uvijek dolazi do sparivanja adenina i timina (A-T) te citozina i gvanina (C-G). Ljudski genom ima oko 3 milijarde parova baza. U svake osobe je 0,5% DNA različito, a taj mali dio sadrži velik broj polimorfizama, tj. razlika u DNA sekvenci te zbog toga svatko ima jedinstvenu genetičku građu.

Analiza DNA je znanstvena metoda koja koristi karakteristike DNA za identifikaciju osoba sa svrhom utvrđivanja pripadnosti biološkog traga žrtvi ili počinitelju kaznenog djela. Zbog toga ona ima važnu ulogu u istraživanju kaznenih djela, identifikaciji nestalih osoba i dokazivanju srodstva.

DNA analizom možemo ispitivati one tragove koji sadrže staničnu jezgru. Možemo koristiti biološke uzorke koji su pohranjeni osušeni ili smrznuti, bez obzira na starost. Uspješno izdvajanje i analiza DNA je moguća iz krvi, sperme, sline, urina, fecesa, dlake, zubiju, kosti, tkiva, povraćenog sadržaja. Također se prikupljaju predmeti sa kojima su osumnjičene osobe bile u kontaktu. Od tih predmeta DNA mogu sadržavati odjeća, obuća, maske, kape i rukavice, alat, oruđe i oružje, setovi za silovanje, donje rublje, posteljina i prljavo rublje, nokti, bris lica, bris bukalne sluznice, vaginalni i rektalni bris, četkice i čačkalice za zube, četke i češljevi za kosu, naočale, ljepljive trake, trake, kondomi, cigarete, gume za žvakanje, maramice, salvete, dječje pelene, čaše, pribor za jelo, boce i čepovi, poštanske marke i pisma. Da bi detekcija DNA profila

analizom pojedinog biološkog traga bila uspješna moramo imati dovoljnu količinu uzorka, DNA ne smije biti previše razgrađena i ne smijemo imati nečistoće u uzorku.

Ukoliko biološki tragovi ne sadrže staničnu jezgru ne mogu se ispitati DNA analizom. To su suze, znoj bez epitelnih stanica, serum.

Izmjena sljedova parova baza i broj ponavljanja parova baza određenog redoslijeda predstavljaju osnovu utvrđivanja identiteta osobe.

10.1. Vrste DNA analize

U DNA molekuli postoje vrlo varijabilni dijelovi koji se pojavljuju u velikom broju kombinacija te se ti dijelovi koriste u DNA analizi. Dakle osnova analize je uspoređivanje ponavljajućih nizova koji su visoko promjenjivi. Prvo je u uporabi bila analiza tzv. promjenjivog broja ponavljajućih nizova ili VNTRs (Variable Number Tandem Repeats), no zbog cijene i složenosti potisnula ih je metoda primjene manjih biljega, tzv. kratkih ponavljajućih nizova ili STR (Short Tandem Repeats).

10.1.1.RFLP analiza

Prva metoda DNA analize je bila analiza polimorfizma dužina restrikcijskih fragmenata ili RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) i počela se primjenjivati sredinom 80-tih godina prošlog stoljeća. Pomoću restrikcijskih enzima koji cijepaju genomsku DNA vrlo često, VNTR sekvence duljine nekoliko stotina parova baza se selektiraju na fragmentima DNA, te se njihova veličina na pojedinim DNA fragmentima određuje pomoću Southern blot metode hibridizacijom sa specifičnom VNTR DNA probom. VNTR sekvence su jako varijabilne u populaciji i ta značajka je prvotno primijenjena u DNA tipizaciju u svrhu identifikacije i individualizacije osoba i tragova.. RFLP je kasnije zamijenjen STR analizom, jer RFLP zahtijeva veliku količinu uzorka

da bi dobili dovoljno DNA za analizu, te nije pogodan za obradu malih ili degradiranih uzoraka. Također to je dugotrajan proces, koji može trajati do 8 tjedana, dok STR-DNA analiza može biti završena za nekoliko dana.

10.1.2.STR-PCR analiza

Najraširenija metoda DNA analize koja se koristi je STR analiza. STR su ponavljajuće sekvence DNA, obično duljine dva do pet parova baza. Forenzička STR analiza analizira broj ponavljanja na specifičnim mjestima (lokusima) DNA. Broj ponavljanja uočenih na lokusima omogućuje nam sastavljanje DNA profila. DNA profili dokaza se mogu usporediti sa profilima poznatih osoba te možemo zaključiti da li je ta osoba doprinijela DNA na dokazima.

STR analiza je slična VNTR analizi u tome što ispituje ponavljajuće dijelove DNA, samo što su ponavljajući dijelovi u STR značajno manji od VNTR sekvenci koje ispituje u RFLP. STR analiza je PCR (Polymerase Chain Reaction, lančana reakcija polimerazom) postupak, što znači da je osjetljivija, kraće je vrijeme obrade, uključen je veći broj lokusa (u prosjeku 15), te je značajno povećana statistička snaga razlikovanja (diskriminacije) osoba i tragova.

Nakon analize 15 ili više visoko promjenjivih dijelova DNA smještenih na autosomnim kromosomima, dobiveni DNA profil možemo upotrijebiti u istraživanju i rješavanju kaznenih djela, te za utvrđivanje rodbinske povezanosti s visokim stupnjem pouzdanosti. Prilikom analize raspadnutih ljudskih ostataka STR analiza nije uvijek uspješna. Iz tog razloga je razvijena metoda analize mini STR-a koja daje rezultate i s degradiranom DNA.

Kada ne možemo dobiti STR profil iz ljudskih ostataka ili nemamo dovoljno referentnih uzoraka za usporedbu, koristimo alternativne metode. To su mitohondrijska DNA (mtDNA),

polimorfizam jednog nukleotida, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) i profiliranje spolnih kromosoma.

10.1.3.Mitohondrijska DNA (mtDNA)

Mitohondriji su male unutar stanične organele smještene u citoplazmi stanice. Svaki mitohondrij ima vlastitu DNA. Mitohondrijska DNA je mali kružni lanac unutar mitohondrija, postoji u mnogo kopija te ju je zbog toga lako izolirati iz uzoraka koji nisu dobro sačuvani. Mitohondrijska DNA se nasljeđuje samo od majke, što znači da nisu jedinstveni pojedinim osobama. Svaka osoba dijeli mtDNA sa majkom, braćom i sestrama i ostalom rodbinom po majčinoj strani.

Mitohondrijska DNA je kružnog oblika te je zbog toga manje podložna degradaciji. Ta stabilnost omogućava upotrebu mitohondrijske DNA u slučajevima kada imamo skeletizirane ostatke ili stare biološke uzorke iz kojih ne možemo dobiti jezgrin DNA profil. Mitohondrijska DNA je korisna u slučajevima masovnih katastrofa, kada ostaci mogu biti podvrgnuti teškim uvjetima, kao što su slana voda, vatra ili drugi elementarni uvjeti koji degradiraju DNA. Zbog maternalnog nasljeđivanja, analiza mitohondrijske DNA nam omogućuje uspoređivanje ostataka sa daljnjom rodbinom, dok nam analiza nuklearne DNA omogućuje analizu bliže rodbine.

10.1.4.Profiliranje spolnih kromosoma

Zbog toga što većina slučajeva spolnog zlostavljanja uključuje DNA tipizaciju sperme donora, a većina uzoraka je kombinacija uzoraka tužitelja i donora sperme, razvijena je nova metoda koja se fokusira na Y kromosom, koji je prisutan samo u muškaraca. Analiza Y kromosoma se bazira na STR analizi. Y-STR analiza pojednostavljuje interpretaciju u slučajevima kada imamo kombinaciju muške i ženske DNA tako što se fokusira samo na mušku DNA. Isto tako se može koristiti u slučajevima kada imamo kombinaciju uzoraka više ljudi. U takvim slučajevima Y-STR

analiza nam pruža informaciju o broju muških donora u uzorku. Y-STR je koristan u slučajevima kada je sperma prisutna u uzorku, no ne detektira se jer je omjer DNA tužitelja prema DNA sperme prevelik. U slučajevima kada je tužitelj žena, tužiteljev doprinos DNA u uzorku se ignorira, jer Y-STR profil se može identificirati jedino u donora sperme. Kod slučajeva spolnog zlostavljanja nema potrebe za razdvajanjem muške i ženske DNA.

Y kromosom se nasljeđuje uniparentno, s oca na sina. Iz tog razloga svi muški potomci u obitelji imaju isti Y profil. Iz tog razloga se Y-STR analiza koristi kao nadopuna nuklearnog DNA testiranja.

10.1.5. Polimorfizam jednog nukleotida (SNP)

Polimorfizam jednog nukleotida, SNP (Single Nucleotide Polymorphism) koristi se u slučajevima znatno degradirane DNA. SNP-i su raspršeni diljem genoma. SNP je jedan par baza DNA koji je varijabilan između ljudi. SNP analiza nam omogućava stvaranje profila iz degradiranog DNA uzorka, jer probe koriste vrlo kratke sekvence. Svaki SNP zasebno je manje informativan od DNA jednog STR lokusa, no procesiranje više SNP-ova omogućuje nivo diskriminacije trenutnih STR analiza. Koristeći mikročip tehnologiju stotine SNP-ova može biti analizirano istovremeno, te nam time pruža puno višu razinu diskriminacije nego trenutna STR analiza. (1,10,13,14)

10.2. Uloga DNA analize u rješavanju slučajeva silovanja

Tragovi sperme su povezani sa spolnim nasiljem, ali isto tako su važan dokaz u drugim kaznenim djelima. Sperma se traži u rodnici mrtve ili žive žene, brisevima uzetim iz rektuma i oralno, te na tijelu žrtve, na odjeći, mjestu počinjenja kaznenog dijela i na počinitelju. DNA analiza tragova sperme uključuje dokazivanje DNA profila žrtve i počinitelja. Iskaz žrtve o počinjenom seksualnom nasilju se provjerava identifikacijom, a DNA testiranje se obavlja radi prepoznavanja počinitelja. U pravilu se radi analizi utvrđivanja DNA profila miješanih tragova, onih u kojima se dvije ili više osoba pojavljuju kao mogući donori traga. Rezultate interpretiramo na dva moguća načina; kada ne možemo jasno odrediti svakog pojedinačnog donora, pa možemo govoriti samo o nemogućnosti isključivanja ispitanika, te kada s visokim stupnjem sigurnosti možemo potvrditi koji određeni aleli pripadaju kojem donoru. (1,10,13,14).

10.3. Uloga DNA analize u utvrđivanju počinitelja kaznenih dijela

Forenzičnom DNA analizom se uspoređuje određeni trag (tjelesna tekućina, tkivo, krv ili predmet uzet za DNA analizu) sa žrtvom ili osumnjičenom osobom. Da bi dobili potrebnu težinu dokaznog materijala, u slučajevima kad se dokazni materijal i mogući donor podudaraju, računamo statističku vjerojatnost podudaranja. (1,10,13,14)

11. RASPRAVA

Drugom polovicom 19. stoljeća dolazi do upotrebe mikroskopa na sudu, kao sredstva za identifikaciju bioloških tragova. U tom periodu započinje i analiza bioloških tragova, koja je u to vrijeme usko povezana sa sudskom medicinom, te se ta analiza fokusira na tjelesne izlučevine, feces, sadržaj želuca, kosu i dlake. Upotreba mikroskopa za identifikaciju i analizu bioloških tragova je još početkom 20. stoljeća bila najmodernija te je pružala sve tada dostupne informacije o biološkim tragovima. Sredinom 20. stoljeća mikroskopija je zamijenjena sve sofisticiranijom mikrokemijskom analizom, što je omogućilo dobivanje još više informacija iz bioloških tragova. Krajem 20. stoljeća započinje upotreba metoda koje koriste DNA, na primjer RFLP analiza te drugih metoda koje su se kasnije razvile, što je omogućilo još točniju analizu bioloških tragova te pouzdanije utvrđivanje počinitelja.

Biološki tragovi koji se izuzimaju prilikom očevida imaju veliku sudskomedicinsku važnost u kaznenom postupku. Prema članku 304. stavka 1. Zakona o kaznenom postupku (NN 80/11, 145/13) očevidom se činjenice u postupku utvrđuju ili razjašnjavaju opažanjem vlastitim osjetilima i njihovim pomagalicama. Zatim se prema članku 308. Zakona o kaznenom postupku (NN80/11, 145/13) određuje vještačenje kad za utvrđivanje ili ocjenu neke važne činjenice treba pribaviti nalaz i mišljenje od osobe koja raspolaže potrebnim stručnim znanjem ili vještinom. Kod obavljanja očevida potrebno je pridržavati se antikontaminacijskih mjera da bi se spriječila kontaminacija tragova te samim time onemogućilo ispravno vještačenje.

Krv i tragovi krvi kao dokazni materijal na sudu nam omogućuju povezivanje počinitelja s mjestom zločina ili povezivanje počinitelja i žrtve. Na temelju analize kapljica krvi („blood

spatter analysis“) možemo izvršiti rekonstrukciju mjesta zločina, možemo zaključiti međusobni položaj počinitelja i žrtve, mogućnosti kretanja i djelovanja te sam položaj tijela žrtve. Otkrićem AB0 sustava krvnih grupa, omogućeno nam je pronalaženje počinitelja kaznenog djela između više osumnjičenih osoba, na temelju krvne grupe tragova krvi pronađenih na mjestu zločina. Daljnjim otkrićem MN i Rh faktora, to pronalaženje počinitelja između osumnjičenih osoba je postalo još točnije i prihvatljivo kao dokaz na sudu.

Sperma i tragovi sperme na sudu često budu ključan dokazni materijal u kaznenim djelima protiv spolne slobode i spolnog ćudoređa. Budući da se tragovi sperme i sperma mogu naći u rodnici žrtve i na njezinoj odjeći, te isto tako na odjeći osobe osumnjičene za to kazneno djelo možemo ih vrlo lako povezati te osumnjičenu osobu okriviti za kazneno djelo protiv spolne slobode i spolnog ćudoređa.

Kosa i dlake na sudu su dokazni materijal koji potvrđuje prisustvo osumnjičene osobe na mjestu zločina, te nam omogućuje pokretanje istrage prema određenoj osumnjičenoj osobi. Na temelju makrometrijskih, makroskopskih i mikroskopskih osobina kose i dlaka se identificiraju kosa i dlake ljudskog porijekla te se uspoređuju sa onima dobivenima od osumnjičenih osoba.

Prema članku 327. stavka 1. Zakona o kaznenom postupku (NN 80/11, 145/13) nadležno tijelo može odrediti molekularno-genetsku analizu kako bi se biološki tragovi uzeti s mjesta počinjenja djela ili drugog mjesta na kojemu se nalaze tragovi kaznenog djela usporedili s biološkim uzorcima uzetim od osoba iz stavka 2. ovog članka ili kako bi se utvrdila istovjetnost određene osobe ili kako bi se ti tragovi ili uzorci sravnili s rezultatima molekularno-genetskih ispitivanja dobivenim prema ovom Zakonu ili drugim zakonima. Nakon toga prema članku 327. stavka 2. Zakona o kaznenom postupku (NN 80/11, 145/13) uzorci biološkog materijala se uzimaju s mjesta počinjenja i drugog mjesta na kojemu su tragovi kaznenog djela, od okrivljenika,

od žrtve te od druge osobe pod uvjetom da se ne radi o biološkom uzorku te osobe.

Nakon uzimanja uzoraka za molekularno-genetsku analizu sa mjesta zločina te uzimanja uzoraka od osumnjičene osobe, žrtve i drugih osoba koje su mogle biti u kontaktu s mjestom zločina pristupa se DNA analizi te izradi DNA profila. DNA profili su izvrstan dokazni materijal u kaznenom postupku jer nam omogućuju direktno povezivanje osumnjičene osobe sa mjestom zločina i žrtvom te su zbog toga prihvatljiv dokaz krivnje.

Iako se u kaznenom postupku služimo svim biološkim tragovima za dokazivanje krivnje, bolja dostupnost metoda molekularno-genetske analize nam je omogućila točnije podatke za dokazivanje krivnje.

Prilikom uzimanja bioloških tragova sa mjesta zločina, predmeta, žrtve te osumnjičenih osoba te kasnijim rukovanjem istima moguće su pogreške koje dovode do netočnosti dobivenih podataka. Te pogreške mogu biti nepridržavanje antikontaminacijskih mjera i mjera samozaštite, uzimanje uzoraka posebnim sterilnim vatenim štapićem, stavljanje uzorka na krivu podlogu, nedovoljno sušenje uzorka, pakiranje traga u krivi omot, pakiranje više tragova u jedan omot, trag je dostavljen na vještačenje u plastičnom omotu, a nije zamrznut, zatim pogrešno označavanje omota traga.

Prilikom interpretacije tragova potrebno je paziti da se ne zamijene uzorci počinitelja i žrtve, da ne dođe do kontaminacije tragova uzorcima osobe koja te tragove analizira te da ne dođe do degradacije tragova, što efektivno sprječava daljnju analizu. Prilikom analize DNA profila potrebno je paziti da ne dođe do pogreške prilikom upisivanja podataka u bazu, te da ne dođe do analiziranja pogrešnog DNA profila. (15)

12. ZAKLJUČCI

- Biološki tragovi mogu biti ljudskog, životinjskog ili biljnog porijekla.
- Nesporni uzorci se uzimaju od osumnjičenih, oštećenih i svih ostalih osoba koje su mogle doći u kontakt sa tragovima ili predmetima na mjestu zločina.
- Uzimanje postmortalnih uzoraka ovisi o vremenu koje je prošlo od smrti, a služe za identifikaciju pronađenog mrtvog tijela.
- Sporni tragovi se pronalaze na mjestu zločina, te na predmetima ili osobama koje su povezane s mjestom zločina ili počinjenim kaznenim dijelom.
- Preliminarnim testovima pronalazimo biološke tragove na mjestu zločina, predmetima i odjeći.
- Preliminarnim testovima dokazujemo postojanje traga no ne i njegovo porijeklo.
- Preliminarni testovi za pronalaženje krvi su fenolftalein test, luminol test i CrimeScope svjetlo.
- Preliminarni testovi za pronalaženje tragova sperme su test kisele fosfataze, prostata specifični antigen test te Polilight svjetlo.
- Preliminarni test za pronalaženje tragova sline je Phadebas test.
- Prilikom uzimanja bioloških tragova potrebno je nositi propisanu zaštitnu opremu, da bi se spriječila kontaminacija bioloških tragova.
- Prilikom uzimanja bioloških tragova potrebno je koristiti mjere samozaštite i svaki biološki materijal pronađen na mjestu zločina treba tretirati kao potencijalno infektivan.

- Potrebna je pravilna pohrana bioloških tragova da bi se spriječila njihova degradacija.
- Određivanjem krvnih svojstava bavi se forenzička hematologija.
- Prisutnost krvi na dokaznim predmetima je ključna za utvrđivanje krivnje ili nevinosti u kaznenom postupku.
- Interpretacija tragova krvi nam može pomoći u rekonstrukciji mjesta zločina.
- Razlikujemo tragove krvi nastale slijevanjem, kapanjem i prijenosom.
- AB0 metoda je bila najčešće korištena metoda za povezivanje bioloških tragova osobama prije uvođenja DNA analize.
- Određivanje AB0 krvnih grupa te MN i Rh faktora nam je korisno u utvrđivanju počinitelja zločina, no često se koristi i u građanskim postupcima.
- Pronalaženje sperme na mjestu zločina upućuje na seksualno zlostavljanje ili na neki drugi seksualno motivirani zločin.
- Trajanje života spermija u rodnici žene je 5 do 20 sati.
- Potvrdni testovi za dokazivanje sperme su Christmas tree stain i RSID.
- Ukoliko u rodnici ne nađemo spermu, to ne isključuje spolni odnos.
- Na mjestu zločina se najčešće nalaze dlake i kosa.
- Forenzičkom analizom kose i dlaka možemo povezati osumnjičenika i mjesto zločina ili osumnjičenika i žrtvu.
- Ukoliko kosa ili dlaka sadrži korijen možemo izolirati DNA.
- U slini 85% populacije možemo odrediti AB0 krvnu grupu
- Stanice bukalne sluznice koristimo za DNA analizu.

- Analiza DNA koristi karakteristike DNA za identifikaciju osoba te utvrđivanja pripadnosti biološkog traga.
- DNA analiza ima važnu ulogu u istraživanju kaznenih djela, identifikaciji nestalih osoba i dokazivanja srodstva.
- DNA analizom ispituje tragove koji sadrže jezgru.
- Razlikujemo RFLP analizu, STR-PCR analizu, analizu mitohondrijske DNA, profiliranje spolnih kromosoma te polimorfizam jednog nukleotida (SNP).
- STR-PCR analiza je najraširenija DNA analiza.
- Mitohondrijska DNA nam omogućava uspoređivanje nalaza s daljnjom rodbinom s maternalne strane.
- Profiliranje Y kromosoma je korisno kod slučajeva spolnog zlostavljanja.
- Polimorfizam jednog nukleotida nam uvelike pomaže u slučaju degradirane DNA.

13. SAŽETAK

Biološki tragovi su tragovi ljudskog, životinjskog i biljnog porijekla. Većina bioloških tragova pronađenih na mjestu zločina su ljudskog porijekla. Biološki tragovi su dlake i kosa, krv, sperma, slina, znoj, suze. Razlikujemo nesporne uzorke i sporne tragove. Nesporne uzorke uzimamo od osumnjičenih, oštećenih i svih ostalih osoba koje su mogle doći u kontakt s tragovima ili predmetima na mjestu zločina, a služe za isključenje. Sporni tragovi su tragovi pronađeni na mjestu zločina, na predmetima ili osobama koje su povezane s mjestom zločina ili počinjenim kaznenim dijelom. Prilikom uzimanja bioloških tragova potrebno je provoditi antikontaminacijske mjere i mjere samozaštite. Tragove krvi analiziramo kod kaznenih djela, najčešće ubojstva i pokušaja ubojstva. Tragovi krvi mogu nastati slijevanjem, kapanjem i prijenosom. Iz krvi analiziramo AB0 krvnu grupu, MN i Rh faktor. Tragove sperme najčešće analiziramo kod kaznenih djela protiv spolne slobode i spolnog ćudoređa. Analiza kose i dlake se koristi za povezivanje počinitelja sa mjestom zločina ili žrtvom. Tragove sline koristimo za određivanje AB0 krvne grupe. DNA analiza koristi karakteristike DNA za identifikaciju osobe te utvrđivanje pripadnosti biološkog traga. DNA analiza se koristi u istraživanju kaznenih djela, identifikaciji nestalih osoba i dokazivanje srodstva. DNA analizom ispitujuemo tragove koji sadrže jezgru. Razlikujemo RFLP analizu, STR-PCR analizu, analizu mitohondrijske DNA, profiliranje spolnih kromosoma te polimorfizam jednog nukleotida.

Ključne riječi: biološki tragovi, krv, sperma, kosa i dlake, AB0, MN faktor, Rh faktor, DNA analiza, RFLP analiza, STR-PCR analiza, mitohondrijska DNA, profiliranje spolnih kromosoma, polimorfizam jednog nukleotida

14. SUMMARY

Biological traces are traces of human, animal and plant origin. Most biological evidences found an a crime scene are of human origin. Biological traces are hair, blood, semen, saliva, sweat, tears. We can distinguish between indisputable samples and disputable traces. Indisputable samples are taken fom suspects, victims and all other persons who may come in contact with traces or objects in the crime scene and are used for exclusion. Disputable traces are traces found at the crime scene, on objects or persons that are connected to the crime scene or committed offense. When taking biological evidence it is necessary to implement anti-contamination measures and measures of self-protection. Blood traces are analyzed in criminal offenses, mostly murder and attempted murder. Blood traces can occur by pouring, dripping and transfer. From the blood we analyze AB0 blood type, MN and Rh factor. Sperm traces are usually analyzed with criminal acts against sexual freedom and sexual morality. Hair analysis is used to connect the perpetrator to the crime scene or the victim. Traces of saliva are used to determine AB0 blood type. DNA analysis uses characteristics of the DNA used to identify the person and determine the origin of biological traces. DNA analysis is used in the analysis of criminal offenses, identification of missing persons and to prove kinship. Whith DNA analysis we can examine traces that contain nucleus. We can distinguish between RFLP analysis, STR-PCR analysis, mitochondrial DNA analysis, sex chromosome profiling and single nucleotide polymorphism.

Keywords: biological traces, blood, semen, hair, AB0, MN factor, Rh factor, DNA analysis, RFLP analysis, STR-PCR analysis, mitochondrial DNA analysis, sex chromosome profiling, single nucleotide polymorphism

15. LITERTATURA

1. Dušan Zečević i suradnici, Sudska medicina i deontologija, Medicinska naklada, Zagreb, 2004.
2. Priručnik za kriminalističke tehničare, Ministarstvo unutarnjih poslova, Zagreb, 2010.
3. <http://www.imprimus.net/PDF%20Files/Workshop%20Previews/Biological%202008.pdf>
4. Pravilnik o načinu uzimanja uzoraka biološkog materijala i provođenja molekularno-genetske analize (NN 120/14)
5. <http://www.ncids.com/forensic/serology/serology.shtml>
6. https://www.abacusdiagnostics.com/Collection_of_Evidence.pdf
7. <http://www.nist.gov/forensics/upload/NIST-IR-7928.pdf>
8. <http://www.forensicsciencesimplified.org/blood/principles.html>
9. <http://www.forensic-medicine.info/forensic-serology.html>
10. Ashraf Mozayani, Carla Noziglia, The forensic handbook: procedures and practice, Humana Press, Totowa, New Jersey, 2006.
11. <http://forensicsciencecentral.co.uk/biology.shtml>
12. http://www.fbi.gov/about-us/lab/forensic-science-communications/fsc/april2009/review/2009_04_review02.htm
13. D. Primorac, D. Primorac, S.-S. Butorac, M. Adamović: Analiza DNA u sudskoj medicini i njezina primjena u Hrvatskome kaznenopravnom sustavu, Hrvatski ljetopis za kazneno pravo i praksu (Zagreb), vol. 16, broj 1/2009, str. 3-26.

14. Henry C. Lee, Carll Ladd, Preservation and Collection of Biological Evidence, Croatian Medical Journal, 42(3):225-228,2001
15. Zakon o kaznenom postupku (NN 152/08, 76/09, 80/11, 121/11, 91/12, 143/12, 56/13, 145/13,152/14)

16. ŽIVOTOPIS

Mišel Šatrak je rođen 02. listopada 1987. godine u Čakovcu. Osnovnu školu Petar Zrinski u Šenkovcu upisuje 1994. godine, a osnovnoškolsko obrazovanje završava 2002. godine. Iste godine upisuje opću gimnaziju u Gimnaziji Josipa Slavenskog u Čakovcu, koju završava 2006. godine. Iste godine upisuje Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu, smjer Biologija. Integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci upisuje 2007. godine.