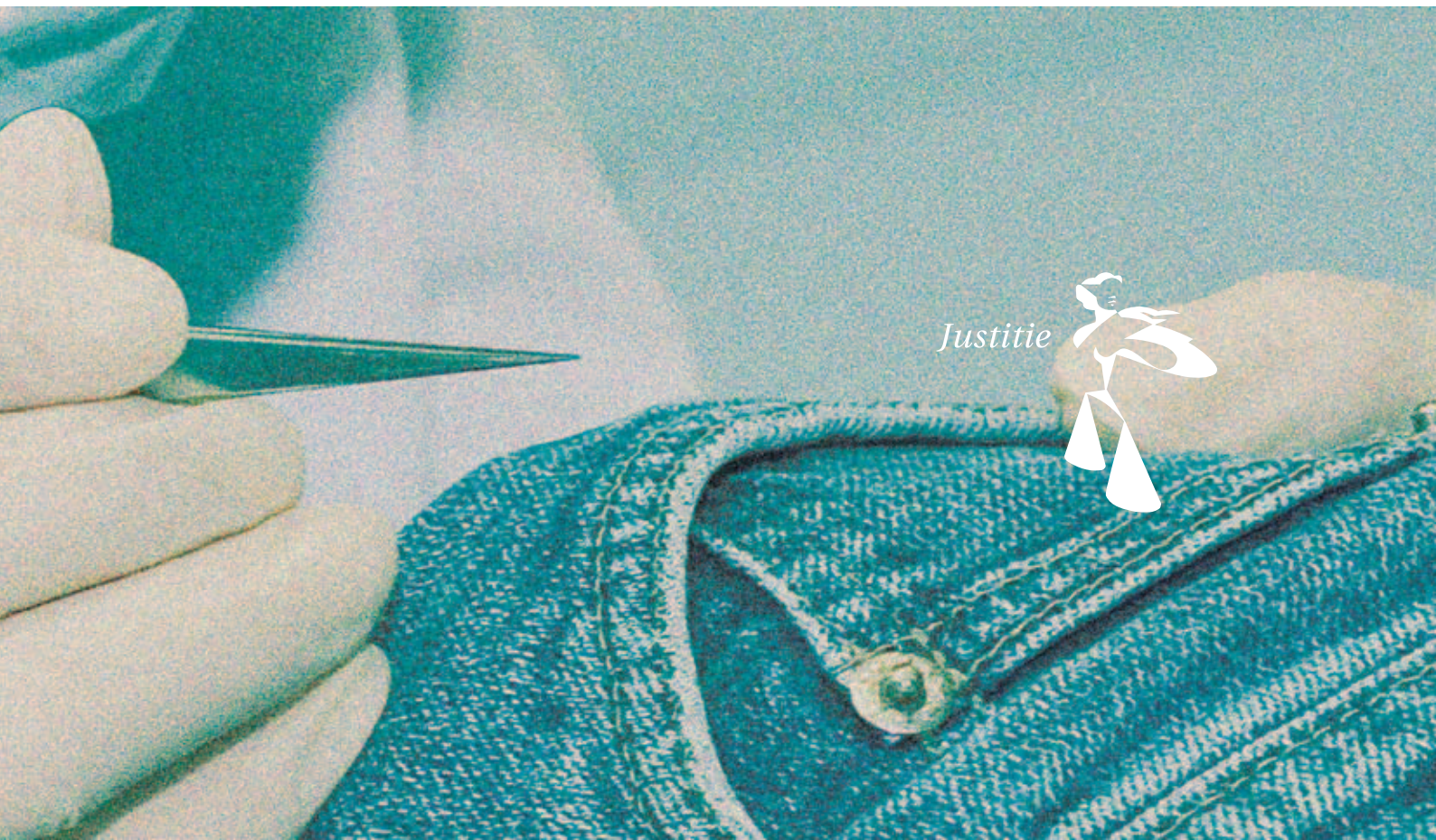


NEDERLANDS FORENSISCH INSTITUUT

De Essenties van forensisch DNA-onderzoek

2 Forensisch onderzoek van sporen van lichaamsvloeistoffen



© 2007 Nederlands Forensisch Instituut

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van het Nederlands Forensisch Instituut.

Voor meer informatie

Nederlands Forensisch Instituut (NFI)

Bezoekadres

Laan van Ypenburg 6
2497 GB Den Haag
Telefoon (070) 888 66 66
Fax (070) 888 65 55

Frontdesk

Telefoon (070) 888 68 88

Postadres

Postbus 24044
2490 AA Den Haag

Emailadres

EssentiesDNA@nfi.minjus.nl

Inhoudsopgave

Drie groepen biologische sporen 4

Onderzoek naar biologische sporen 4

Forensisch DNA-onderzoek 5

Eisen voor veiligstellen en bewaren van biologische sporen (kader) 5

Bloed 6

Tetrabasetest 7

Luminol 8

Bloedspoorpatroononderzoek 9

Sperma 11

Microscopisch onderzoek 11

Zure fosfatasetest 12

Zure fosfatase afdrukmethode 13

Prostaatspecifiek antigeentest (PSA-test) 14

Speeksel 15

Alfa-amylasetest 15

Alfa-amylase afdrukmethode 16

Biologische contactsporen (kader) 17

Celmateriaal in nagelvuil 17

Penisafstrijkjes en condooms 17

Forensisch onderzoek van sporen van lichaamsvloeistoffen

Door de snelle ontwikkelingen op het gebied van forensisch DNA-onderzoek hebben biologische sporen de afgelopen jaren een centrale rol verworven in de bewijsvoering van strafrechtzaken. Voor sporen van de lichaamsvloeistoffen bloed, sperma en speeksel geldt dat het Nederlands Forensisch Instituut (NFI) deze sporen met de huidige beschikbare technieken als zodanig kan typeren, of hiervoor sterke aanwijzingen kan verkrijgen. Sporen van deze lichaamsvloeistoffen kunnen sterk delictgerelateerd zijn. Daardoor speelt DNA-onderzoek van deze sporen een belangrijke rol bij het identificeren van mogelijke betrokkenen bij het delict en bij de reconstructie van wat zich op de plaats delict kan hebben afgespeeld.

Drie groepen biologische sporen

Er worden doorgaans drie groepen biologische sporen onderscheiden.

- 1 De eerste groep omvat sporen van de *lichaamsvloeistoffen bloed, sperma en speeksel*. Dit zijn sporen waarvan is vast te stellen om welk type celmateriaal of vloeistof het gaat of waarvoor aanwijzingen daarvoor zijn te verkrijgen. Bloedsporen en spermasporen zijn als zodanig te identificeren. Mogelijke speekselsporen zijn niet met zekerheid als speeksel te identificeren, maar met een test kan men wel een aanwijzing hiervoor verkrijgen.
- 2 De tweede groep biologische sporen zijn de *haren*. Forensisch haaronderzoek is beschreven in Brontekst 3.
De biologische sporen bloed, sperma, speeksel en haren noemt men ook wel de klassieke biologische sporen.
- 3 *Biologische contactsporen* vormen de derde groep biologische sporen. Van deze sporen is met de huidige technieken niet vast te stellen, of zijn geen aanwijzingen te verkrijgen, tot welke lichaamscellen ze behoren. Biologische contactsporen komen uitgebreid aan de orde in Brontekst 4.

Naast deze drie groepen biologische sporen worden ook tanden/kiezen, botten, spieren en weefsels gebruikt voor forensisch (DNA-)onderzoek. Dit biologisch celmateriaal speelt met name een rol bij het identificeren van (onbekende) overleden personen.

Onderzoek naar biologische sporen

Het onderzoek naar biologische sporen begint met de criminalistische analyse van de stukken van overtuiging. Hiervoor is de vaste gerechtelijke deskundige verantwoordelijk.

Uitgangspunt is de onderzoeksvraagstelling van de aanvrager van het onderzoek. Nadat een onderzoeksplan is opgesteld coördineert de vaste gerechtelijke deskundige het uit te voeren onderzoek. Op basis hiervan onderwerpen gespecialiseerde sporen(onder)zoekers de aangeleverde stukken van overtuiging aan een minutieus onderzoek naar de aanwezigheid van biologische sporen en proberen de aard hiervan vast te stellen. In eerste instantie is het sporenonderzoek altijd gericht op de klassieke biologische sporen bloed, sperma, speeksel en haren. De sporen(onder)zoeker stelt, indien van belang in de zaak, eerst de haren veilig die op de sporendrager, het stuk van overtuiging, aanwezig zijn. Deze liggen veelal los op de sporendrager en kunnen daardoor tijdens verder onderzoek hiervan verloren gaan. Afhankelijk van de onderzoeksvraag en de context van de zaak vindt onderzoek plaats naar de aanwezigheid van bloed, sperma of speeksel. Om deze sporen te vinden heeft de sporen(onder)zoeker diverse soorten lichtbronnen, microscopen en (chemische) tests tot zijn beschikking.

Levert dit onderzoek geen of onvoldoende bruikbaar resultaat op, dan kan men onderzoek naar biologische contactsporen overwegen (zie Brontekst 4).

Het biologische sporenonderzoek vindt plaats in speciaal hiervoor ingerichte laboratoria. Stukken van overtuiging gerelateerd aan het slachtoffer en stukken van overtuiging gerelateerd aan de verdachte worden altijd in van elkaar gescheiden ruimten onderzocht. Dit om mogelijke contaminatie -ongewenste overdracht van biologisch sporenmateriaal (DNA)- te voorkomen.

Forensisch DNA-onderzoek

Uit de veiliggestelde biologische sporen wordt het DNA geïsoleerd. Dit gebeurt op het DNA-laboratorium. Het DNA-laboratorium bestaat uit verschillende, van elkaar gescheiden ruimten. Het isoleren van DNA uit biologische sporen gebeurt in andere laboratorium-ruimten dan waar isolatie van DNA uit de referentiemonsters van personen plaatsvindt. Dit om elk mogelijk risico van contaminatie -ongewenste overdracht van DNA- uit te sluiten. De steeds betere DNA-technieken maken het mogelijk dat een zeer geringe hoeveelheid sporenmateriaal al een DNA-profiel kan opleveren. Echter, of het DNA-onderzoek een DNA-profiel oplevert dat geschikt is om te vergelijken met andere DNA-profielen (vergelijkend DNA-onderzoek) hangt af van verschillende factoren, zoals de kwaliteit van het DNA van het spoor (zie Brontekst 5). Die wordt bepaald door de condities waaronder het spoor is aangetroffen, veiliggesteld en bewaard (zie onderstaand kader). Over het algemeen zijn uit bloed, sperma en speeksel bruikbare DNA-profielen te verkrijgen.

Eisen voor veiligstellen en bewaren van biologische sporen

De kwaliteit van het spoor is van groot belang voor het verkrijgen van een zo optimaal mogelijk resultaat van het DNA-onderzoek. Naast de hoedanigheid van het spoor bij het aantreffen zijn ook de wijze van veiligstellen en bewaren hierop van grote invloed. DNA is kwetsbaar en zeer gevoelig voor vocht, warmte en direct zonlicht. Door deze invloeden kan DNA worden afgebroken of kan de kwaliteit ervan afnemen.

Voor het veiligstellen en bewaren van (stukken van overtuiging met) biologische sporen gelden in het algemeen* de volgende eisen:

- voorkom tijdens het veiligstellen verontreiniging van het spoor;
- droog de sporen aan de lucht en bewaar ze in een droge omgeving;
- bewaar de sporen koel (niet warmer dan kamertemperatuur), maar niet in een koelkast of diepvries (omdat de sporen dan vochtig kunnen worden door condens of ijsafzetting);
- bewaar de sporen buiten direct zonlicht, bij voorkeur in een donkere ruimte.

*N B In sommige specifieke omstandigheden gelden andere eisen. Zo dienen condooms met vloeibaar sperma en bloedsporen in sneeuw/ijs ingevroren te worden bewaard.

Eventuele biologische sporen op een stuk van overtuiging aangetroffen in water (zoals een wapen in een sloot) blijven het best behouden door het stuk van overtuiging in dit water (zoals sloot-water) veilig te stellen en als zodanig voor onderzoek aan te leveren.

Voor uitgebreide informatie over het veiligstellen en bewaren van biologische sporen voor een vergelijkend DNA-onderzoek zie de volgende Forensisch Technische-normen (FT-normen):

FT-norm 210.02: veiligstellen van haren

FT-norm 250.03: speekselsporen

FT-norm 250.04: bloedsporen

FT-norm 250.05: bebloede stukken van overtuiging

FT-norm 250.06: spermasporen

Bloed

Bij geweldsmisdrijven kan de aanwezigheid van bloed in veel gevallen een belangrijke bijdrage leveren aan de opsporing en bewijsvoering. Bloedsporen hebben vaak een rechtstreeks verband met het delict en zijn dan 'delictgerelateerd'. Hierdoor kunnen ze een relatie leggen tussen het slachtoffer, de verdachte, de plaats delict en/of het stuk van overtuiging. Bij het onderzoek naar bloed worden de stukken van overtuiging met het blote oog en zonodig met behulp van lichtbronnen (zoals scheerlicht en de -op verschillende golflengtes in te stellen- forensische lichtbron) en een operatiemicroscopie onderzocht op de aanwezigheid van op bloed gelijkende sporen (zie illustraties 1 en 2).



Illustratie 1 (links) en illustratie 2 (rechts): Bij het onderzoek van stukken van overtuiging naar biologische sporen (zoals bloed) maakt men gebruik van scheerlicht (illustratie 1) en een operatiemicroscopie (illustratie 2).

Om vast te stellen of een op bloed gelijkend spoor ook daadwerkelijk bloed is, test de sporen(onder)zoeker het spoor met de zogenoemde tetrabasetest. Met deze specifieke test voor het aantonen van bloed is bloed te onderscheiden van andere, op bloed gelijkende substanties.

In situaties waarbij geen bloedsporen zijn waar te nemen, maar men vermoedt dat deze zijn verwijderd door bijvoorbeeld schoonmaken of verven, is onderzoek met luminol een optie. Met luminol is het mogelijk om bloedsporen die men met het blote oog niet kan zien zichtbaar te maken. Plaatsen delict waar de bloedsporen zijn uitgewist kunnen op deze manier nader worden onderzocht op de aanwezigheid van latent -onzichtbaar- aanwezig bloed.

De tetrabasetest en luminol reageren ook positief met dierenbloed. Als het veiliggestelde bloed niet afkomstig is van een mens, dan zal dit blijken uit het DNA-onderzoek: uit het spoor wordt dan geen DNA-profiel verkregen. De door het NFI gebruikte DNA-analysesystemen zijn alleen geschikt voor menselijk celmateriaal. Met deze DNA-analysesystemen is uit dierlijk bloed geen DNA-profiel te verkrijgen. Het is overigens wel mogelijk in dergelijke gevallen te onderzoeken of het daadwerkelijk dierenbloed betreft en van welk soort dier het bloed afkomstig is.

Tetrabasetest

Om de aanwezigheid van bloed op stukken van overtuiging vast te stellen gebruikt men de tetrabasetest (zie illustratie 3). Tetrabase is een stof die in de aanwezigheid van hemoglobine reageert met de stof peroxide. Het eiwit hemoglobine komt in zeer grote hoeveelheden voor in rode bloedcellen, en niet in andere lichaamscellen. Hierdoor is tetrabase zeer geschikt om bloed aan te tonen. De tetrabasetest toont bloed aan op alle mogelijke sporendragers (van kleding tot gebruiksvoorwerpen).

De tetrabasetest kan soms ook een vals-positief resultaat geven. Bekende voorbeelden zijn de positieve reacties met oxiderend metaal (zoals roestplekken) en met chloor bevattende schoonmaakmiddelen. Deze vals-positieve reacties zijn over het algemeen goed te herkennen en daardoor te onderscheiden van positieve reacties met bloed.

DNA-onderzoek van een tetrabase-positief spoor resulteert meestal in een DNA-profiel.

Levert het tetrabase-positieve bloedspoor geen DNA-profiel op dan kan dit betekenen dat er te weinig celmateriaal in het bloedspoor zit, dat de kwaliteit van het bloedspoor is afgenomen of dat het bloed afkomstig is van een dier.

Werkwijze tetrabasetest

De tetrabasetest voert men uit door een minimale hoeveelheid van het op bloed gelijkende spoor dat op het stuk van overtuiging is aangetroffen over te brengen ('te bemonsteren') op een testpapiertje. De tetrabasetest moet altijd worden uitgevoerd op een monster van het waargenomen op bloed gelijkende spoor, en nooit op het spoor zelf. Op het monster op het testpapiertje brengt men een druppel tetrabase. Tetrabase is een chemische verbinding en staat voor 'tetra-methyl-diaminodifenylmethaan'. Dit is de kleurstof die tijdens de reactie wordt omgezet. Vervolgens voegt men een druppel peroxide (in de vorm van de stof bariumperoxide) toe. Als het monster hemoglobine en dus rode bloedcellen bevat wordt de reactie in gang gezet en ontstaat er een blauwe kleur.

Schematisch weergegeven als:



De kleuromslag van het tetrabase is met het blote oog waar te nemen. Treedt geen blauwe verkleuring op, dan is de tetrabasetest negatief en kan men de aanwezigheid van bloed vrijwel zeker uitsluiten.

N B Doordat de tetrabasetest in twee reactiestappen verloopt (eerst toevoegen van tetrabase en daarna van peroxide) zijn eventuele vals-positieve reacties goed te herkennen.

Voor uitgebreide informatie over de tetrabasetest zie de FT-norm 251.01.



Illustratie 3: Om de aanwezigheid van bloed op stukken van overtuiging vast te stellen gebruikt men de tetrabasetest.

Luminol

In die gevallen waarbij met het blote oog geen bloed waarneembaar is kan een onderzoek met luminol (chemische naam: '3-aminoftaalhydrazide') uitkomst bieden. Echter, een groot nadeel van luminol is dat het schadelijk is voor DNA. Men moet daarom altijd rekening houden met een aanzienlijk afbreukrisico voor het DNA in de met luminol aangetoonde - mogelijke- bloedsporen. Daarom vindt onderzoek met luminol alleen plaats nadat eerst met daglicht en met lichtbronnen (zoals scheerlicht en de forensische lichtbron) naar bloedsporen is gezocht. Pas als dat onderzoek geen of onvoldoende resultaat oplevert kan men onderzoek met luminol overwegen.

Luminol is een chemische stof die in de aanwezigheid van hemoglobine in de rode bloedcellen een blauwachtig gekleurd licht uitzendt. Door de hoge gevoeligheid van de chemische reactie is luminol zeer geschikt om uiterst kleine hoeveelheden bloed, die met het blote oog niet meer zichtbaar zijn, nog aan te tonen. Hierdoor kunnen met luminol zelfs restanten van in het verleden weggewerkte bloedsporen zichtbaar worden gemaakt. Bovendien biedt deze techniek de mogelijkheid om in één keer grote oppervlakten te onderzoeken (zie illustratie 4).

Luminol reageert niet alleen met bloed, maar geeft ook een positieve reactie met stoffen zoals jute en sisal, met oxiderend metaal (zoals roestplekken), verf, behangplaksel, sommige schoonmaakmiddelen (zoals chloor bevattende bleekmiddelen) en bepaalde groenten en fruit. Vandaar dat men een positief resultaat altijd moet bevestigen met de meer specifieke tetrabasetest. In het algemeen geldt dat luminol-positieve sporen die een negatief resultaat geven met de tetrabasetest geen of te weinig bloed bevatten en dus geen DNA-profiel zullen opleveren. Het kan voorkomen dat een met luminol waargenomen spoor direct na aantreffen een positieve reactie geeft in de tetrabasetest, maar dat een herhaling van de tetrabasetest enige tijd later resulteert in een negatief resultaat. De oorzaak hiervan is niet geheel duidelijk, maar men moet hier wel op bedacht zijn.

Werkwijze luminol

Om de blauwachtige kleuring van de luminolreactie te zien moet de ruimte waarin het onderzoek plaatsvindt donker zijn. Daarom verduistert men eerst de te onderzoeken ruimte, om deze daarna te benevelen met luminol. Op die plaatsen waar blauwachtige kleuring (chemiluminescentie) optreedt, kan bloed aanwezig zijn. Luminol heeft een schadelijke werking op DNA. Om de afbreuk van DNA door luminol zo veel mogelijk te beperken moeten de waargenomen en veiliggestelde sporen zo snel mogelijk worden onderworpen aan DNA-onderzoek.

Voor uitgebreide informatie over het gebruik van luminol voor het zichtbaar maken van latente bloedsporen zie de FT-norm 253.01.



Illustratie 4: De verkleuring op de vloer (blauw) toont de plaatsen aan waar door luminol de mogelijke restanten van verwijderde bloedsporen zichtbaar zijn geworden. Met het blote oog waren in deze gang geen bloedsporen te zien. Gezien de omvangrijke blauwkleuring na luminolbehandeling kan in de gang een grote hoeveelheid bloed aanwezig zijn geweest. Op de foto is goed te zien dat vermoedelijk na het delict de bloedsporen in de gang zijn weggewerkt (waarschijnlijk door dweilen).

Onderzoek Mikle van der Scheer, bloedspoorpatroondeskundige NFI

Bloedspoorpatroononderzoek

Bloedsporen spelen een belangrijke rol bij het identificeren (via DNA-onderzoek) van mogelijke betrokkenen bij het delict. Daarnaast kunnen bloedsporen ook waardevolle informatie verschaffen voor de reconstructie van wat zich op de plaats delict kan hebben afgespeeld. Deze informatie kan worden verkregen door onderzoek van de uiterlijke kenmerken van de bloedsporen (zoals grootte, vorm en richting) op de plaats delict of op het stuk van overtuiging.

Bloed gedraagt zich volgens de wetten van de natuurkunde en met name die van de ballistiek (de leer van de banen die niet-geleide projectielen in de lucht beschrijven). Daardoor kan bloedspoorpatroononderzoek inzicht geven op welke manier, met wat voor kracht, van welke richting en hoogte een letsel kan zijn toegebracht (zie illustratie 5).

De conclusies die volgen uit de resultaten van het bloedspoorpatroononderzoek, gecombineerd met de conclusies die volgen uit de resultaten van het DNA-onderzoek van deze bloedsporen kunnen van grote waarde zijn voor de reconstructie van een misdrijf. Hiermee kan men verklaringen van personen bevestigen of ontkrachten. Bloedspoorpatroononderzoek is een aparte discipline en gebeurt door speciaal hiervoor opgeleide deskundigen.



Illustratie 5: Bloedsporen op een deur. Door bloedspoorpatroononderzoek kan men inzicht verkrijgen op welke manier, met wat voor kracht, van welke richting en hoogte een letsel kan zijn toegebracht. Deze informatie is van belang bij de reconstructie van wat zich op de plaats delict kan hebben afgespeeld. Foto: Mikle van der Scheer, bloedspoorpatroondeskundige NFI.

Sperma

Bij het forensisch onderzoek van zedendelicten staat over het algemeen het onderzoek naar spermasporen centraal. Hierbij onderzoekt men eerst of sperma kan worden aangetoond in de bemonsteringen van het lichaam van het slachtoffer, zoals schede-uitstrijkjes. Is dit niet het geval, dan onderzoekt men de kleding -met name de slip- van het slachtoffer en eventueel andere sporendragers zoals beddengoed.

De sporen(onder)zoeker bekijkt de stukken van overtuiging bij daglicht. Zijn hierbij geen op sperma gelijkende sporen waar te nemen, dan vindt onderzoek van het stuk van overtuiging plaats met de forensische lichtbron, een sterke bron van gefilterd licht. Een forensische lichtbron, zoals de 'crimescope', kan licht van verschillende golflengtes uitzenden. Door deze in te stellen op licht van een bepaalde golflengte worden de sporen zichtbaar die interessant kunnen zijn voor nader onderzoek. Of deze sporen daadwerkelijk spermasporen zijn moet aanvullend onderzoek uitwijzen. Eerst onderwerpt men het spoor aan de zure fosfatetest. Dit is een screeningstest die een aanwijzing geeft of het spoor mogelijk een spermaspoor is. Is deze test positief, dan volgt microscopisch onderzoek om te kijken of er spermacellen aanwezig zijn. Is dit het geval, dan is sperma aangetoond. Zijn er geen spermacellen waar te nemen dan kan men met de 'prostaatspecifiek antigeentest' -afgekort als PSA-test- nog vaststellen of het spoor wel spermavloeistof bevat.

Als een zedendelict wordt vermoed, onderzoekt een forensisch arts het lichaam van het slachtoffer. De arts neemt, afhankelijk van de context van het misdrijf, hiertoe monsters van schede (schede-uitstrijkjes), anus, mond, nagelvuil, schaamhaar en hoofdhaar, en eventueel andere plaatsen van het lichaam. Bij dit onderzoek maakt de arts gebruik van de 'onderzoeksset zedendelicten'.

Zie voor uitgebreide informatie over het bemonsteren van sporen bij zedendelicten de FT-norm 250.10.

Microscopisch onderzoek

De tijdens het forensisch-medisch onderzoek door de forensisch arts afgenomen bemonsteringen (zoals van de schede, anus en/of mondholte van het slachtoffer) worden microscopisch onderzocht. Hetzelfde geldt voor op sperma gelijkende sporen, aangetroffen op een stuk van overtuiging. Zijn microscopisch spermacellen aangetroffen, dan is hiermee de aanwezigheid van sperma aangetoond in de desbetreffende bemonstering van het lichaam of op het stuk van overtuiging. Als belangrijke regel geldt dat *alleen* als met microscopisch onderzoek spermacellen zijn waargenomen daadwerkelijk sperma is aangetoond.

Waarnemen van spermacellen

Voor het aantonen van spermacellen maakt men van een kleine hoeveelheid van de bemonstering van het lichaam of van het spoor een microscooppreparaat. Om het celmateriaal op het microscooppreparaat te kunnen bekijken wordt een celkleurende stof toegevoegd. De spermacellen zijn vervolgens te herkennen aan de karakteristieke kleurstelling van de ovaalvormige spermakop en aan de mogelijk aanwezige staart. Door de kleuring zijn in de kop van de spermacel twee verschillende intensief gekleurde delen te onderscheiden: het lichtgekleurde deel aan de voorzijde (ongeveer een derde van het totale oppervlak) en het donkergekleurde overige deel.

Spermacellen verliezen na verloop van tijd hun staart. Ook kunnen spermacellen tijdens het maken van het microscooppreparaat of tijdens de opslag van de bemonstering hun staart verliezen. Daarom zoekt men in het microscooppreparaat naar zowel intacte spermacellen (met kop en staart), als naar spermakoppen.

Ondanks de enorm grote hoeveelheid spermacellen in een normaal ejaculaat (2,5 tot 6 milliliter met 100 miljoen spermacellen per milliliter) is het niet altijd eenvoudig spermacellen te vinden in een microscooppreparaat. Zo zal bijvoorbeeld in het microscooppreparaat van een uitstrijkje van een slachtoffer van een zedendelict een grote hoeveelheid celmateriaal van het slachtoffer zelf aanwezig zijn.

Daarnaast is de wijze van bemonsteren tijdens het forensisch medisch onderzoek door de forensisch arts en de verstreken tijd tussen het vermeende zedendelict en de bemonstering van cruciaal belang. In de praktijk gaat men ervan uit dat de aanwezigheid van spermacellen na 24 uur al sterk is teruggelopen en dat over het algemeen na drie tot zeven dagen na de gemeenschap geen spermacellen meer aantoonbaar zijn.

Gesteriliseerde mannen en mannen met azoöspermie door een andere oorzaak hebben geen spermacellen in hun ejaculaat.

In een ingedroogd spermaspoor dat daarna droog, koel en in het donker is bewaard zijn zelfs na jaren nog spermacellen aantoonbaar. Wordt het spermaspoor opgeslagen terwijl het niet vooraf is gedroogd, dan zullen micro-organismen de spermacellen snel afbreken.

Zure fosfatasetest

Een belangrijk hulpmiddel bij het zoeken naar sperma op stukken van overtuiging is de zure fosfatasetest. Dit is een screeningstest om te kijken of een waargenomen op sperma gelijkend spoor mogelijk sperma is.

De zure fosfatasetest toont de aanwezigheid van zure fosfatase aan. Zure fosfatase is een enzym dat door de prostaat in spermavloeistof wordt uitgescheiden. Naast spermavloeistof, komt zure fosfatase ook voor in andere lichaamsvloeistoffen. Bij gezonde mannen is de concentratie zure fosfatase in sperma ongeveer vierhonderd keer hoger dan in andere lichaamsvloeistoffen.

Zure fosfatase is ook aanwezig in sommige planten en schimmels, gisten, zaden, bacteriën en ander dierlijk materiaal (vlees), maar ook in sommige kruiden (kaneel), groenten (taugé, bloemkool) en zuivelproducten (chocola). Ook in fecaliën kan zure fosfatase aanwezig zijn.

Daarom wordt met het aantonen van het enzym zure fosfatase niet specifiek sperma(vloeistof) aangetoond. De zure fosfatasetest geeft derhalve niet meer dan een aanwijzing op de mogelijke aanwezigheid van sperma(vloeistof). Bij een positief resultaat moet men er altijd op bedacht zijn dat dit vals-positief kan zijn.

Geeft een op sperma gelijkend spoor een positieve reactie in de zure fosfatasetest, dan moet uit microscopisch onderzoek blijken of er spermacellen aanwezig zijn. Naast vals-positieve reacties kunnen ook vals-negatieve reacties optreden.

Er zijn aanwijzingen dat hoge concentraties urine, speeksel, vaginale deodorant en spermadodende middelen de zure fosfatase enzymactiviteit verstoren. Dit kan leiden tot een onterecht negatief resultaat van de zure fosfatasetest.

De zure fosfatasetest kan worden toegepast op sporen op alle mogelijke sporendragers, zoals textiel, leer, glas en papier.

Werkwijze zure fosfatasetest

De test op de aanwezigheid van zure fosfatase voert men uit met speciaal hiervoor ontwikkeld testpapier. Zure fosfatase reageert specifiek met de chemicaliën in het testpapier. Al een minimale hoeveelheid van het op sperma gelijkende spoor is voldoende voor deze test. Een positieve reactie is waar te nemen doordat het testpapier een specifieke kleur krijgt.

N B Sommige bestanddelen van wasmiddelen kunnen een vals-positieve reactie veroorzaken in de zure fosfatasetest. Als deze bestanddelen zich nog in de stof van het te onderzoeken kledingstuk bevinden ontstaat een vals-positieve reactie op het textiel. Daarom moet de *verkleuring van het testpapier* worden beoordeeld en niet de verkleuring van het te onderzoeken spoor op het stuk van overtuiging zelf.

Ook bij het onderzoek van de bemonsteringen (uitstrijkjes) van het lichaam van een slachtoffer van een zedendelict kan men gebruikmaken van de zure fosfatasetest. Dit gebeurt wanneer in de bij de bemonsteringen behorende microscooppreparaten geen spermacellen zijn waargenomen. De zure fosfatasetest geeft een indicatie of de bemonsteringen van het lichaam mogelijk wel spermavloeistof bevatten.

In sperma van mannen met azoöspermie en gesteriliseerde mannen zijn geen spermacellen aanwezig. Het spermavloeistof van deze mannen bevat wel het enzym zure fosfatase. Hierdoor kan de zure fosfatasetest ook in deze gevallen een positief resultaat geven.

Zure fosfatase afdrukmethode

In situaties waarbij bij daglicht, scheerlicht of met behulp van de forensische lichtbron op het stuk van overtuiging geen op sperma gelijkende sporen zijn waar te nemen, is de zure fosfatase-afdrukmethode een mogelijkheid voor nader onderzoek. De zure fosfatase afdrukmethode toont, net als de zure fosfatasetest, de aanwezigheid aan van het enzym zure fosfatase. Met deze methode kan men stukken van overtuiging, zoals kledingstukken en beddengoed, in zijn geheel onderzoeken op aanwijzingen op mogelijk aanwezig sperma. De sporen(onder)zoeker drukt het stuk van overtuiging -bijvoorbeeld een spijkerbroek- in zijn geheel af op een vochtig vel testpapier. Dit testpapier, met de 'afdruk' van het stuk van overtuiging, wordt vervolgens besproeid met een oplossing, die specifiek reageert met zure fosfatase. De plaatsen op het testpapier waar zure fosfatase aanwezig is (afkomstig van het stuk van overtuiging) verkleuren. Dit is een aanwijzing op de mogelijke aanwezigheid van sperma. De plaatsen op het stuk van overtuiging die corresponderen met de zure fosfatase-positieve vlekken op het testpapier kan men vervolgens microscopisch onderzoeken om vast te stellen of hier ook daadwerkelijk spermacellen aanwezig zijn en dus sperma bevatten. Is dit het geval dan kunnen deze sporen worden uitgeknipt en veiliggesteld.

Ook bij de zure fosfatase afdrukmethode moet men alert zijn op zowel vals-positieve reacties als vals-negatieve reacties. Deze hebben dezelfde oorzaken als die bij de zure fosfatasetest.

Prostaatspecifiek antigeentest (PSA-test)

Wanneer bij het microscopisch onderzoek geen spermacellen zijn waargenomen, kan de 'prostaatspecifiek antigeentest' -afgekort als PSA-test- aanvullende informatie geven. Deze test toont de aanwezigheid van menselijk prostaatspecifiek antigeen aan. Dit eiwit wordt in hoge concentratie door de prostaat uitgescheiden.

De test past men toe op sperma gelijkende sporen die positief reageren in de zure fosfatasetest, maar waarbij met microscopisch onderzoek geen spermacellen zijn waargenomen. Met een positieve PSA-test is de aanwezigheid van spermavloeistof aangetoond.

Spermaonderzoek

- Alleen als **microscopisch** spermacellen (met of zonder staart) zijn waargenomen mag men concluderen dat het spoor sperma bevat.
- De **zure fosfatasetest** is een test om van op sperma gelijkende sporen te bepalen of deze het enzym zure fosfatase bevatten. De test geeft indirect een aanwijzing (indicatie) of de op sperma gelijkende sporen mogelijk sperma(vloeistof) bevatten.
- De **zure fosfatase afdrukmethode** is een test om stukken van overtuiging -met name kledingstukken- in zijn geheel te onderzoeken op de aanwezigheid van het enzym zure fosfatase. De test geeft indirect een aanwijzing (indicatie) op welke plaatsen op het stuk van overtuiging er mogelijk sperma(vloeistof) aanwezig is.
- De **PSA-test** toont spermavloeistof aan. Men gebruikt deze test om van op sperma gelijkende sporen die positief reageren in de zure fosfatasetest, maar waarbij tijdens microscopisch onderzoek geen spermacellen zijn waargenomen, de aanwezigheid van spermavloeistof aan te tonen.

Samengevat geldt dat de zure fosfatasetest en -afdrukmethode dienen als een zeer grove screening op mogelijk aanwezige spermasporen. Met de PSA-test toont men de aanwezigheid van spermavloeistof aan. Alleen als daadwerkelijk spermacellen (met of zonder staart) microscopisch zijn waargenomen in de bemonstering van het spoor kan men concluderen dat sperma is aangetoond.

Speeksel

Afhankelijk van de context van het misdrijf kan onderzoek naar de aanwezigheid van speekselsporen op bepaalde voorwerpen zinvol zijn. Denk hierbij aan postzegels en likranden van enveloppen (van bijvoorbeeld dreigbrieven), maskers en bivakmutsen.

Maar ook peuken, kauwgom en drinkranden (van bijvoorbeeld flesjes, blikjes of glazen) kunnen dragers zijn van speekselsporen. Ze bevatten in de meeste gevallen voldoende speeksel om hieruit een DNA-profiel te verkrijgen. Om niet meer materiaal te verbruiken dan strikt noodzakelijk is, stelt men peuken, kauwgom en bemonsteringen van drinkranden veilig zonder voorafgaand indicatief onderzoek naar de aanwezigheid van speeksel.

Speekselonderzoek kan ook een belangrijke rol spelen in het onderzoek van zedendelicten. Speekselsporen kunnen zijn achtergebleven op het lichaam of de kleding van een slachtoffer of verdachte van een zedendelict als gevolg van oraal seksueel contact.

Bij onderzoek naar de aanwezigheid van speekselsporen maakt men gebruik van de forensische lichtbron -een sterke bron van gefilterd licht- (zie illustratie 6) in combinatie met de alfa-amylasetest.



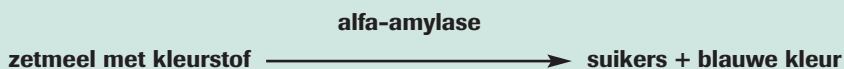
Illustratie 6: Bij onderzoek naar de aanwezigheid van speekselsporen maken de sporen(onder)zoekers van het NFI gebruik van de forensische lichtbron 'crimescope', een sterke bron van gefilterd licht. Foto Dennis Boon, NFI

Alfa-amylasetest

Met de alfa-amylasetest onderzoekt men of sporen of stukken van overtuiging mogelijk speeksel bevatten. Alfa-amylase is een enzym dat in hoge concentratie in speeksel voorkomt. Het aantonen van de aanwezigheid van dit enzym geeft indirect een aanwijzing op de aanwezigheid van speeksel op de hierop onderzochte sporen en stukken van overtuiging. Men dient er wel rekening mee te houden dat alfa-amylase ook aanwezig is in andere lichaamsvloeistoffen, zoals sperma, zweet, urine, traanvocht, bloed en in faeces. De alfa-amylase concentratie is daarin wel vele honderden malen lager dan in speeksel. Omdat de alfa-amylasetest niet specifiek speeksel aantoonst, geeft deze test strikt genomen alleen een aanwijzing op de mogelijke aanwezigheid van speeksel.

Werkwijze alfa-amylasetest

Het enzym alfa-amylase splitst zetmeel in suikers. De test voert men uit door van het veilig-gestelde spoor een monster te nemen en hieraan een stof toe te voegen die zetmeel bevat waaraan een kleurstof is gebonden. Als alfa-amylase aanwezig is in het monster van het spoor wordt het zetmeel gesplitst in suikers. Hierdoor laat de kleurstof los van het zetmeel en kleurt de oplossing blauw. Hiermee is een aanwijzing verkregen op de mogelijke aanwezigheid van speeksel in het monster van het spoor.



Het enzym alfa-amylase zet het zetmeel met kleurstof om in suikers en blauwgekleurde fragmenten.

Alfa-amylase afdrukmethode

In situaties waarbij tijdens het visuele onderzoek van het stuk van overtuiging geen aanwijzingen zijn verkregen op speekselsporen, kan men de alfa-amylase afdrukmethode toepassen. Sporendragers zoals kledingstukken onderzoekt men hiermee in het geheel op aanwijzingen op speeksel. De onderzoeker drukt het stuk van overtuiging -bijvoorbeeld een bivakmuts- af op een vochtig vel testpapier, dat een zetmeel-kleurstof oplossing bevat die specifiek reageert met alfa-amylase. De plaatsen op het testpapier waar contact is geweest met alfa-amylase (afkomstig van het stuk van overtuiging) verkleuren. Dit geeft een aanwijzing op de mogelijke aanwezigheid van speeksel. De met de alfa-amylase-positieve vlekken op het testpapier corresponderende plaatsen op het stuk van overtuiging kan men vervolgens uitknippen en veiligstellen.

Biologische contactsporen

Biologische contactsporen komen aan de orde in Brontekst 4. Twee situaties waarin biologische contactsporen vrijwel altijd een rol spelen bij het onderzoek naar sporen van lichaamsvloeistoffen zijn hieronder beschreven.

Celmateriaal in nagelvuil

Nagelvuil is een potentiële bron van celmateriaal en vezels. Bij gewelds- en zedenmisdrijven kan door krabben (cel)materiaal van de dader onder de nagels van het slachtoffer terechtkomen. Ook omgekeerd kan het geval zijn. Dit (cel)materiaal kan enkele dagen tot een week aantoonbaar in het nagelvuil aanwezig zijn. Dit hangt af van factoren zoals de aard van het contact, de persoonlijke hygiëne, de lengte van de nagels en of het nagelvuil in contact is geweest met water. Bij het bemonsteren van slachtoffers/verdachten van geweldsdelicten verzamelt men het nagelvuil door het onder de nagels weg te halen (met bijvoorbeeld wattenstaafjes of tandenstokers) of men knipt de nagels af. Nadat eventueel aanwezige vezels zijn veiliggesteld bemonstert men het nagelvuil in zijn geheel.

Bij onderzoek van zedendelicten verzamelt de forensisch arts, als daar aanleiding toe is, tijdens het medisch onderzoek het nagelvuil van het slachtoffer en/of verdachte.

Penisafstrijkjes en condooms

Op de penis van de dader van een zedendelict kan zich celmateriaal van het slachtoffer bevinden (van bijvoorbeeld de schede, mond of anus). Daarom is het zinvol om van de penis van de verdachte van een zedendelict penisafstrijkjes te maken. Dit gebeurt tijdens het medisch forensisch onderzoek. Van belang hierbij is dat de verdachte zich niet heeft gewassen na het misdrijf (en dus kort na het delict is aangehouden).

Wanneer bij een zedendelict een condoom is gebruikt worden binnen en buitenzijde van het condoom apart bemonsterd. Het is mogelijk aan de binnenzijde van het condoom celmateriaal (waaronder huidcellen en sperma) van de dader aan te treffen en aan de buitenzijde van het condoom celmateriaal van het slachtoffer. Glijmiddelen en zaaddodende stoffen hebben een negatief effect op de morfologie van spermacellen en het verkrijgen van een DNA-profiel uit het celmateriaal.

N B Om het DNA-onderzoek zo optimaal mogelijk te kunnen uitvoeren dient men het condoom direct na veiligstellen (en afbinden) in te vriezen en in bevroren toestand aan het NFI over te dragen.

