

Forenzička genetika-

Predavanje II: Biološki tragovi

Prof. dr Oliver Stojković

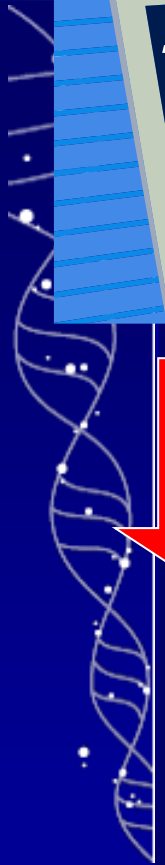
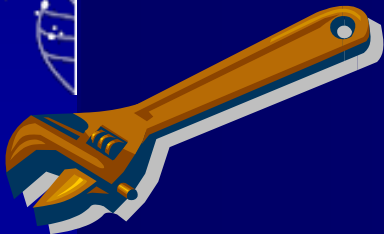
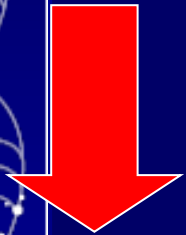
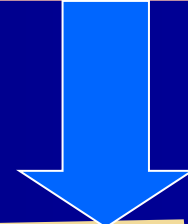
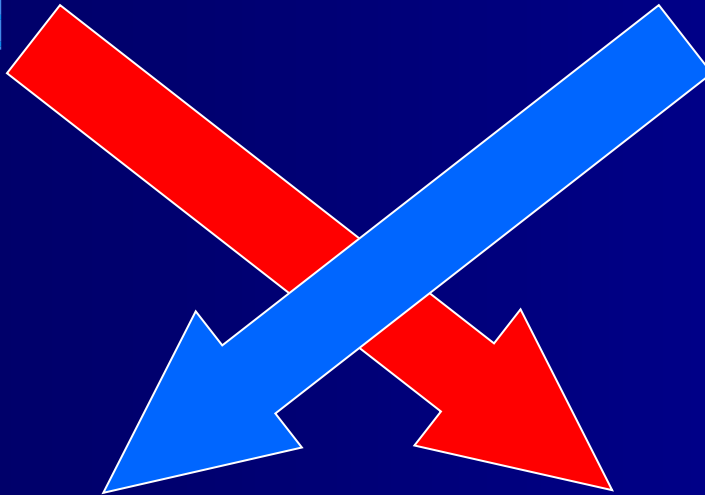
DNK laboratorija Instituta za sudsku medicinu, Medicinski fakultet

SCIENCEphotOLIBRARY

Odakle biološki tragovi

- 
- Lokardov princip transfera:
 - Kad god dva objekta dođu u kontakt, dolazi do razmene materije između njih
 - Kada dve osobe (ili osoba i objekat) dođu u kontakt dolazi do transfera biološke materije

Gde se mogu naći biološki tragovi



Odakle biološki tragovi na mestu zločina?

- Od počinioca
- Od žrtve
- Od ostalih učesnika
- Od slučajnih prolaznika
- Od osoba koje su tu boravile ranije
- Od osoba koje su tu došle kasnije



Najčešći tipovi bioloških tragova i mesto njihovog nalaženja

Predmet	Lokacija DNK	Izvor DNK
palica, motka	drška, kraj	znoj, koža, krv, tkivo
kapa, marama, maska	unutrašnja površina	znoj, dlaka, perut
Naočare	Oko nosa i ušiju, staklo	znoj, koža
Higijenski ubrus, štapić za uši	površina	sluz, krv, znoj, sperma, cerumen
Prljav veš	Površina	krv, znoj, sperma, izbljuvak
Čačkalica za zube	Vrh	Pljuvačka
Opušak cigarete	Filter	Pljuvačka
Koverat ili markica	Lizana površina	Pljuvačka
Traka ili konopac	unutrašnja ili spoljašnja površina	koža, znoj, dlake
Flaša, konzerva, čaša	deo u kontaktu sa ustima	pljuvačka, koža
Korišćen kondom	Unutrašnja i spoljašnja površina	sperma, vaginalne i rektalne ćelije
Posteljina	površina	znoj, dlaka, sperma, pljuvačka, koža
Metak	spoljašnja površina	Krv, tkivo
Mesto ugriza	na telu ili na odeći osobe	Pljuvačka
nokti	ispod nokta	koža, krv

Količina DNK u različitim biološkim tkivima

Tip biološkog materijala

Količina DNK

Krv u tečnom stanju

30µg/ml

Mrlja krvi

200 ng / cm² mrlje

Semena tečnost

250µg/ml

Mrlja semene tečnosti na postkoitalnom vaginalnom brisu

0-3µg po brisu

Dlaka sa korenom

1-750 ng po dlaci

Dlaka bez korena (anagena)

1-12 ng po dlaci

Pljuvačka

5 µg/ml

Urin

1-20 ng/ml



Problemi sa biološkim tragovima

Degradacija

Hemijski

varikina
kiseline
baze

Fizički

toplota
svetlost

Biološki

bakterije
buđ

Kontaminacija

Drugim vrstama

bakterije
životinje

Drugim ljudima

prisutni tokom zločina
znatiželjnici
krim. tehničari



Pravila za sprečavanje degradacije i kontaminacije bioloških tragova

Nošenje zaštitne odeće, obuće, maske, kape i rukavica

Stalno menjanje rukavica

Korišćenje čistih pomagala (pinceta, sečiva, ambalaže)

Ukloniti sve osobe koje ne učestvuju u procesovanju mesta zločina

Uzdržavanje od jedenja, pijenja, pušenja, kijanja, kašljanja

Pakovanje SUVIH tragova u PAPIRNE kese ili kutije



Pravila za sprečavanje unakrsne kontaminacije bioloških tragova

Biološki tragovi se skupljaju jedan po jedan i zasebno pakuju

Menjanje rukavica ili pranje u 5% varikini nakon svakog traga

Pranje svih predmeta, instrumenata i površina koje su došle u kontakt sa biološkim materijalom u 5% varikini



Pravila za prikupljanje tragova krvi

Vizualizacija mogućih tragova krvi

Golim okom

Luminolom

Benzidinom

Hemastiks trakama



Pravila za fiksiranje tragova tečne krvi

Natapanje vate na štapiću ili sterilnog filter papira ili sterilne pamučne tkanine ili gaze

SUŠENJE PRE PAKOVANJA!!!

Pakovanje u papirni koverat

Zatvaranje i obeležavanje



Pravila za fiksiranje suvih tragova krvi

Odevni predmeti, komadi oruđa i oružja i manji komadi nameštaja se transportuju u celini, umotani u zaštitni papir i spakovani u kutiju

Mrlje krvi na predmetima koji se ne mogu u celini transportovati u laboratoriju (zidovi, podovi, vrata, prozori, nameštaj, vozila) se nakon fotografisanja skidaju:

1. brisanjem pomoću štapića nakvašenog vodom
2. struganjem pomoću oštrog noža ili skalpela



Skidanje suvog traga krvi štapićem

Štapić se nakvasi vodom

Višak vode se ukloni trešenjem

Mrlja se čitava skida

Po potrebi upotrebiti više štapića

Sušenje na vazduhu tokom 20 minuta

Pakovanje u koverat (nikako plastičnu kesicu)



Skidanje suvog traga struganjem

Ispod mrlje se prisloni i pričvrsti komad papira
savijen na pola

Struganjem nožem se mrlja u celosti skine

Papir se uvije i osigura da se ne otvori

Umotani papir se stavlja u koverat

Koverat se zatvori lepljivom trakom (NIKAKO
PLJUVAČKOM)



Pravila za prikupljanje tragova semene tečnosti

Vizualizacija mogućih tragova semene tečnosti
golim okom ili
pomoću alternativnog izvora svetla (ALS)

Dokazivanje tragova semene tečnosti

Phosphatesmo KM trakama

ABAcad trakama na PSA



Pravila za fiksiranje tragova tečne sperme i suvih mrlja



Sva pravila kao i kod krvi



Sastav krvi

Krv predstavlja mešavinu:

vode

ćelija

organskih substanci (šećera, masti, enzima i drugih proteina)

Neorganskih substanci (soli)

55 % krvi čini plazma – uglavnom voda i u njoj rastvorene materije

Najveći deo čvrste tvari čine ćelije

crvena krvna zrnca (eritrociti)

bela krvna zrnca (leukociti)



Forenzička karakterizacija krvnih mlja

Tri glavna pitanja:

1) Da li je to krv?

Benzidinski test

Kastle-Meyer Test

Hemastix (o-tolidine, TMB)

Luminol Test

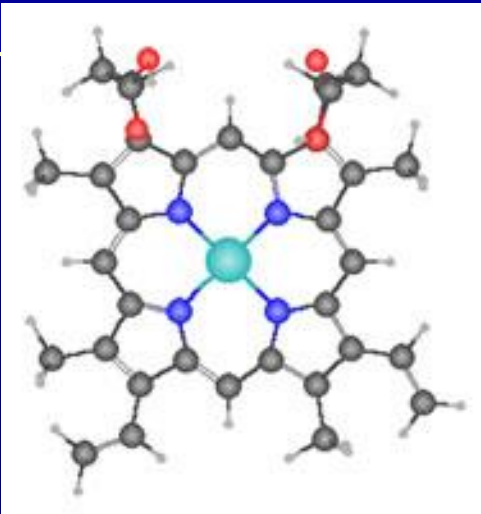
2) Da li je to ljudska krv ?

Anti hHb Ab

3) Čija je to krv?

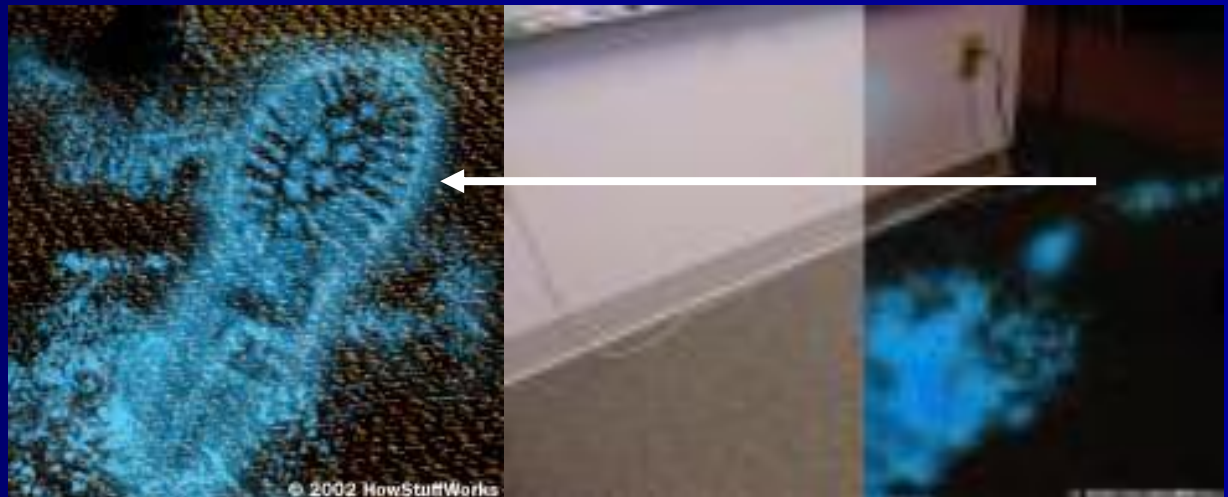


Luminol



Struktura hema

- *Eritrociti sadrže hemoglobin (Hb) – protein odgovoran za transport kiseonika i ugljen dioksida*
- *Svaki Hb sadrži četiri hema sa po jednim atomom gvožđa (Fe)*



Krvni antigeni

Antigeni su različiti molekuli koje naš imunski sistem (preko antitela) može da prepozna, kako bismo se odbranili od stranih bioloških substanci.

Proteini i drugi molekuli vezani za membrane krvnih ćelija takođe predstavljaju antigene

Za identifikaciju ljudi posebno su važni antigeni na eritrocitima i leukocitima.

Na eritrocitima je do danas opisano više od 15 različitih antigena.



Tipizacija krvnih grupa

Determinacija antigena na površini eritrocita

Dva najčešće korišćena sistema su A-B-O sistem i Rh sistem

krvna grupa A– sadrži "A" antigen na RBC

krvna grupa B– sadrži "B" antigen na RBCs

krvna grupa AB– sadrži i A i B antigene

krvna grupa O– ne sadrži ni A ni B antigene

Rh+ krv – sadrži Rh antigen

Rh- krv – nema Rh antigen



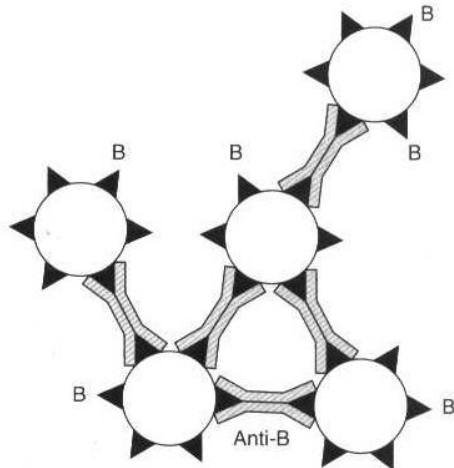
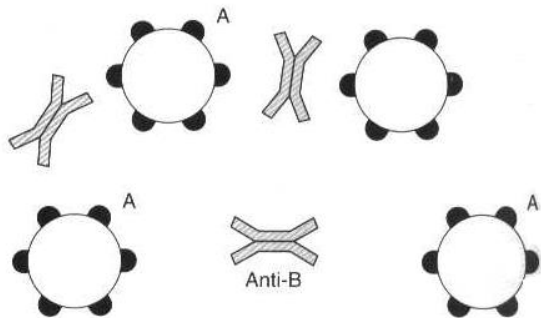
Tipizacija krvi

U krv i se nalaze i antitela— proteini koji prepoznaju specifične antigene i za njih se vezuju



<u>Krvna grupa</u>	<u>Antigeni na RBC</u>	<u>Antitela</u>
A	A	anti-B
B	B	anti-A
AB	AB	nema
O	nema	oba A & B

Tipizacija krvi



Kada se krv sa specifičnim antigenbom pomeša sa krvlju sa odgovarajućim antitelima dolazi do zgrušavanja

Ugrušak se potom uklanja imunskim sistemom domaćina

Tipizacija krvi



Ljudski serum sadrži specifična antitela (ali se ona mogu i kupiti - antiserumi)

Kap uzorka krvi se pomeša sa odgovarajućim antiserumom



Reakcija krvi i antiseruma



Nema reakcije između krvi i antiseruma

Tipizacija krvi: primer

Uzorci nepoznate krvi se pomešaju sa tri različita antiseruma :

Tuba 1 (Anti-A): Nema reakcije

Tuba 2 (Anti B): Nema reakcije

Tuba 3 (Anti Rh): Reakcija

Koje krvne grupe (ABO i Rh) je ova nepoznata krv?

ABO antigeni se nalaze i na drugim ćelijama izuzev RBC; 80% ljudi su sekretori



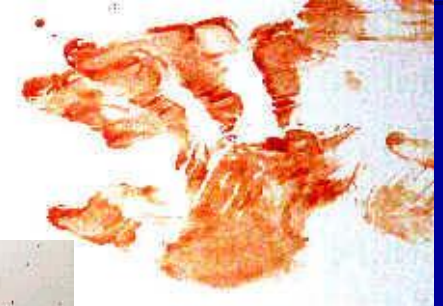
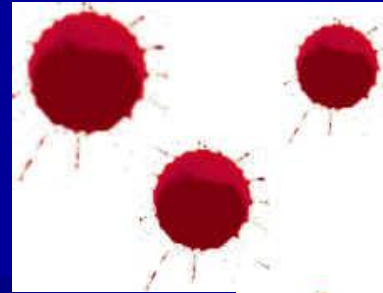
Analiza tragova krvi

Kategorije mrlja krvi:

Pasivne mrlje (tragovi kapanja)

Transfer (brisotine)

Prskotine

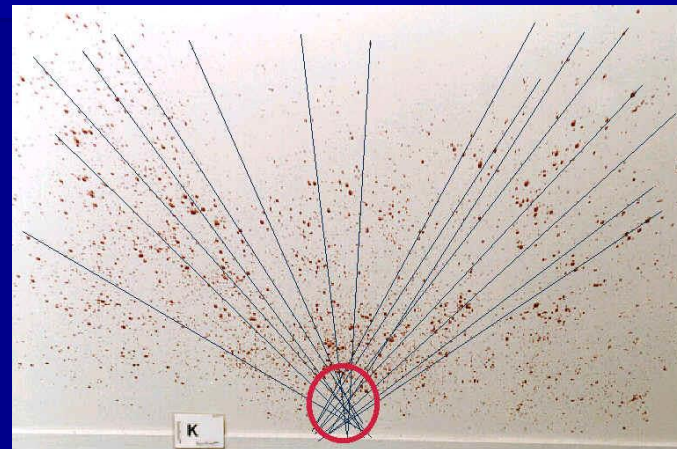
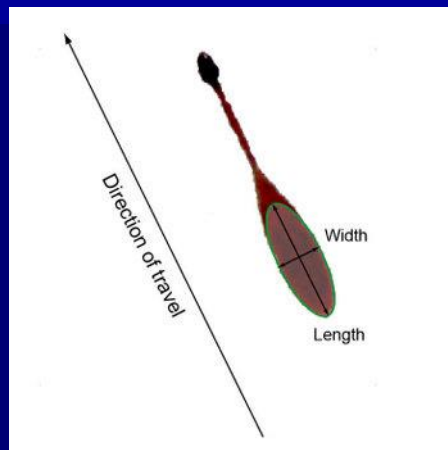


Prskotine nastaju zbog upotrebe vatrenog oružja, zamahnutog tupog oružja, iz ubodina i sekotina.

Analiza tragova krvi

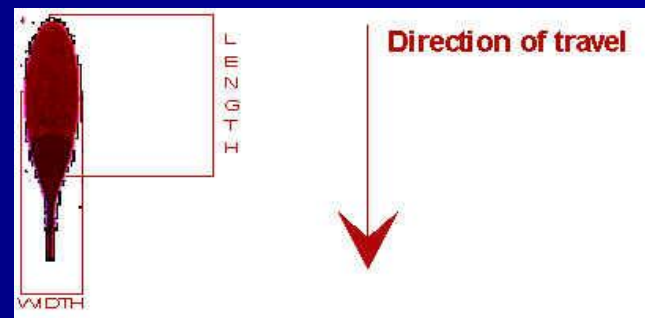
Dva važna parametra:

a. Pravac i smer



b. Ugao pod kojim kap pada na površinu

$\sin \alpha = (\text{širina kapi} / \text{dužina mrlje})$



Identifikacija semene tečnosti

Šta je semena tečnost?

■ *Mešavina:*

- *Ćelija*
- *Enzima*
- *Drugih organskih i neorganskih elemenata*

Spermatozoidi su najvažnija i najspecifičnija komponenta semene tečnosti

Identifikacija semene tečnosti

Spermatozoidi



Identifikacija semene tečnosti

Potruga za tragovima semene
tečnosti

■ *Na odeći, koži, posteljini*

■ *Vizualni pregled;
beličasto žućkasta*

■ *ALS: Fluroescencija*



Identifikacija semene tečnosti

Presumptivni Testovi

- *Test na seminalnu kiselu fosfatazu (SAP)*



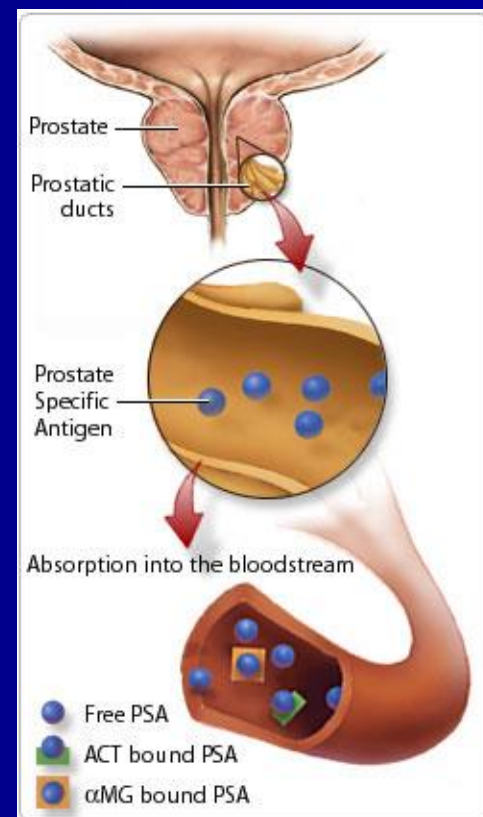
Identifikacija semene tečnosti

Prostate-Specific Antigen (PSA ili p30)

*PSA je protein koji
produkuje prostata*

*Može potvrditi prisustvo
semene tečnosti i kada
spermatozoidi nisu prisutni*

*Test se zasniva na
imunološkoj reakciji*



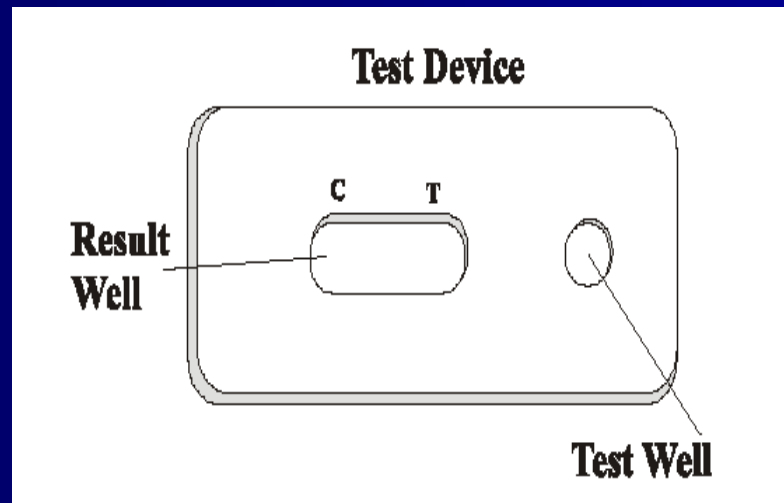
Identifikacija semene tečnosti

Prostate-Specific Antigen (PSA ilip30)

Isečak tkanine ili brisa se inkubira u vodi

Rastvor se nakapa u bunarić na testu

*Tečnost se kapilarnim silama pokreće do test-
zone*



Identifikacija semene tečnosti

Prostate-Specific Antigen (PSA or p30)

Antitela su vezana za matriks

Vidljiva test linija (T) znači da je PSA prisutan

Ostale trake su kontrolne



Forenzička karakterizacija pljuvačke

Pljuvačka -saliva – je mešavina

vode -99% water

Mucina (proteina koji nam pomaže pri gutanju)

Amilaze (enzima za varenje ugljenih hidrata)

Ćelija sluzokože (dobro za DNK analizu)

Odrasle osobe proizvedu 1.0-1.5 litara pljuvačke dnevno pa se često ovaj trag nalazi na mestu zločina (posebno nakon ugriza).



Identifikacija pljuvačke

Kako se pljuvačka detektuje

- *Prisustvo Amilaze*
 - *Enzim razlaže skrob*
 - *Nalazi se u mnogim telesnim tečnostima; puno u pljuvački*
- *Prisustvo specifičnih proteina imunološkim reakcijama*

