

Biološki tragovi na mjestu događaja

Biological traces at the crime scene

Mišel Šatrak¹, Stella Hobljaj¹, Valter Stemberga², Ivan Šoša^{2*}, Dražen Cuculić²

Sažetak. Biološki tragovi koji se pronadju na mjestu nekog događaja su ljudskog, životinjskog i biljnog podrijetla. Većinom su ljudskog podrijetla – dlake, kosa, krv, sperma, slina, znoj i suze, ali i nokti, zubi i komadići kosti. U raspravi o biološkim tragovima 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 događaja, a služe za isključenje. Sporni tragovi su tragovi pronađeni na mjestu događaja, na predmetima ili osobama koje su povezane s mjestom događaja ili počinjenim kaznenim dijelom, a čiji su identitet i uloga u događaju poznati. Prilikom uzimanja bioloških tragova potrebno se pridržavati pravila antikontaminacije i sigurnosti rada s biološkim materijalom, uključujući i mjere samozaštite. Cilj je sudskomedicinske obrade svih bioloških tragova osigurati dovoljnu količinu kvalitetnog DNK-a koji će se moći upotrijebiti u individualizaciji svakog pojedinog biološkog traga. Osim u tom analitičkom koraku kojim se iz traga nedvojbeno izvodi dokaz, biološki tragovi mogu se obraditi i nekim jednostavnijim, jeftinijim i manje pouzdanim metodama. U ovom preglednom članku obradili smo i sudskomedicinski značaj tragova sperme. Sperm najčešće analiziramo kod kaznenih djela protiv spolne slobode i spolnog ćudoređa. Analiza kose i dlaka koristi se i za povezivanje počinitelja s mjestom događaja ili žrtvom i za razne toksikološke analize, a tragove sline koristimo i za određivanje krvne grupe.

Glavne riječi: biološki trag; DNK analiza; profiliranje

Abstract. Biological traces found at the crime scene are of human, animal and plant origin. Among them the most commonly present are of human origin – hair, blood, sperm, saliva, sweat and tears, but also nails, teeth and bone bits. When considering biological traces as evidence, we distinguish incontestable and debatable traces. Incontestable samples are taken from suspects, alive victims and from all other people that may have been in contact with the traces or objects at the crime scene. Debatable traces are found at the scene of events, on objects or people associated with the venue or criminal offence, whose identity and role in the event is known. When taking biological traces, it is necessary to comply with the anti-contamination and safety rules regarding handling with biological material, including self-protection measures. The goal of processing biological traces that are usable as court evidence is to provide a sufficient amount of DNA, which can be used in the individualization of each biological trace. However, in addition to this analytical step by which evidence is undoubtedly drawn from the trace, biological traces can be treated with some simpler, cheaper and less reliable methods. In this review article, we also discussed the judicial significance of sperm traces. Sperm is often analyzed for crimes impinging on sexual freedom. Hair samples can be used for toxicological analysis and to connect perpetrators to an event or victim.

Key words: biological trace; DNA analysis; profiling

¹ Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

² Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

***Dopisni autor:**

Dr. sc. Ivan Šoša, dr. med.
Medicinski fakultet u Rijeci
Zavod za sudsku medicinu i kriminalistiku
Vukovarska 11, 51 000 Rijeka
e-mail: ivan.sosa@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

BIOLOŠKI TRAGOVI

Biološki tragovi obuhvaćaju sve one iz kojih se može analizirati DNK. Ovakvoj definiciji ipak treba oprezno pristupiti i reći kako se biološkim tragovima mogu smatrati svi oni koji potječu od bioloških sustava, tj. ljudi, životinja ili biljaka¹. Upravo tragovi ljudskog podrijetla oni su koji su najčešće predmet kriminalističkog ispitivanja u sudskomedicinske svrhe. Isto tako, ne treba pojmove „trag” i „dokaz” koristiti kao istoznačnice, već valja imati

Biološki tragovi pronađeni na mjestu zločina uglavnom su ljudskog podrijetla; konkretno, to su dlake i kosa, krv, sperma, slina, znoj, suze. Kriminalistički ih svrstavamo u nesporne uzorke (služe za isključenje) i sporne tragove (nedvojbeno povezane s mjestom zločina ili počinjenim kaznenim dijelom).

na umu da se trag obradom znanstvenom metodom pretvara u dokaz². Najčešći predmet kriminalističkog ispitivanja su krv i tjelesne izlučevine te dlake i kosa. Na temelju mjesta gdje se izlučuju i onog gdje ostvaruju svoj učinak tjelesne izlučevine ljudskog podrijetla možemo podijeliti u tri skupine: sekreti, ekskreti i inkreti (ili hormoni)³.

Deoksiribonukleinska kiselina može se naći u gotovo svakoj stanici u organizmu, u jezgri i u mitohondrijima. Jezgrin DNK pakiran je pomoću proteina u kromatin, odnosno, ovisno o fazi staničnog ciklusa, u kromosome^{4,5}. Kromosomski DNK može se izolirati iz svakog biološkog materijala koji sadrži jezgre stanica. Logično, DNK se ne može dobiti iz seruma, suza ili znoja zbog toga jer ti biološki tragovi nemaju stanica s jezgrom⁶.

Na osnovi činjenice je li poznato kome pripada biološki trag, on se označava kao nesporan ili sporan⁷. Sporni uzorci su uzorci podrijetlom od osobe čiji nam identitet nije poznat, a pronađeni su na mjestu događaja, na predmetima ili osobama koje su povezane s mjestom događaja ili počinjenim kaznenim djelom¹. Analizom spornih uzoraka utvrđuju se forenzički DNK profili, a za potvrđivanje od koga potječu potrebno je imati nesporne (referentne) uzorke za usporedbu. Nesporan uzorak je biološki materijal osobe čiji nam je identitet poznat; radi se o osumnjičenima, oštećenima

i svim ostalim osobama koje su mogle doći u kontakt s tragovima ili predmetima na mjestu događaja, a služe za isključenje⁸.

Didaktički na ovom mjestu koristimo podjelu bioloških tragova na osnovi agregatnog stanja u kojem su pronađeni. U tekućem obliku možemo pronaći tragove krvi, sperme, sline, sekret iz nosa, iskašljaj... te ih tada uzimamo, ako je moguće, s podlogom, zatim sušimo na sobnoj temperaturi i spremamo u papirnati omot. Kada tragove nije moguće uzeti s podlogom ili podloga nepovoljno utječe na sam trag, uzimamo tako da sterilnim štapićem uz što manje zadiranja u podlogu izuzmemo trag⁹.

Suhi biološki tragovi u pravilu su sasušeni tragovi – krvi, sperme, sline, sekreta iz nosa, iskašljaja. Kao i tragovi u tekućem stanju, i ovi se uzimaju s podlogom na kojoj se nalaze, suše se na sobnoj temperaturi te pakiraju u papirnati omot.

Biološke tragove koje nije moguće uzeti s podlogom ili podloga nepovoljno utječe na sam trag uzimamo pomoću sterilnog štapića navlaženog destiliranom vodom. Ako je podloga porozna ili upijajuća, a trag se ne može uzeti u cijelosti, uzima se izrezivanjem dijela podloge očišćenim škalicama ili izrezivanjem i struganjem pomoću očišćenog skalpela te pakira u papirnati omot. Isto se radi i sa sitnim tragovima i strugotinama, koje se prvo omata papirom, a onda pakira u papirnati omot¹.

Preliminarni i potvrdni testovi

Vizualnim pregledom mjesta događaja, predmeta, odjeće i drugih tragova razabiremo tragove koji su po svojoj proirodi biološki. Bez pomoći preliminarnih testova vrlo je teško zamijetiti ili nemoguće pronaći tragove koji su oskudni ili isprani¹⁰. Preliminarni testovi temelje se na kemijskim, fizikalnim ili enzimskim reakcijama. To je orijentacijska proba i upućuje na postojanje traga, no ne i na njegovo podrijetlo¹. Tragove koji preliminarnim testovima daju pozitivne rezultate, treba uzeti i poslati na vještačenje, gdje će se definirati njihovo podrijetlo⁷.

KRV I TRAGOVI KRVI

Često je nalaz krvi na dokaznim predmetima indikativan prilikom povezivanja određenog predme-

ta s izvršenjem kaznenog djela ili mjestom događaja¹. Interpretacija oblika tragova krvnih mrlja korisna je u određivanju dinamike određenog događaja te pomaže u rekonstrukciji događaja. Hematološka znanja u okvirima sudske medicine primjenjuju se pri određivanju svojstava, što svježje, što krvi u tragovima.

Krvne grupe jedno su od tih svojstava, a određuju se kada je potrebno usporediti osobine krvi određene osobe s pronađenim tragovima kod slučajeva fizičkog ozljeđivanja žrtve ili počinitelja (napadi, seksualna zlostavljanja ili provale). Ponekad se krv uzima i kod građanskih postupaka, primjerice u sporovima utvrđivanja očitstva.

Osobine krvi umrlih osoba određuju se kad postoji mogućnost da će tragovi njihove krvi biti negdje pronađeni. Rutinski se određuje krvna grupa, a općenito govoreći određivanje krvnih osobina može poslužiti za identifikaciju umrlih osoba.

Oblici tragova krvi

Po načinu nastanka razlikujemo¹¹ nekoliko oblika tragova.

Tragove nastale slijevanjem niz tijelo zovemo pruge (prugasti trag koji polazi od određenog ishodišta) koje nastaju curenjem krvi iz izvora djelovanjem sile teže. Temeljem tih pruga moguće je rekonstruirati položaj ozljeđenog dijela tijela te tako zaključiti o sposobnosti ozljeđene osobe za djelovanje nakon ozljeđivanja^{12,13}. Krv iz pruga upije se u odjeću ili se nakuplja na podlozi u obliku lokve.

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. Kada je izvor krvarenja u predjelu tijela koji prekriva odjeća ili kada se krv slijeva do odjevnog predmeta dolazi do prožimanja odjeće krvlju. Tada se krv djelomično upije u tkaninu, a djelomično se širi u smjeru djelovanja sile teže.

Kap krvi nastaje jednostavnim kapanjem s visine, djelovanjem sile teže. Oblik same kapi, odnosno njezino raspršivanje upućuje na visinu i smjer padanja kapi. Primjerice, kada kap pada okomito na podlogu razlije se jednako u svim smjerovima, s druge pak strane, manji kut padanja kapi uvjetuje izraženiju raspršenost kapi sa satelitima u smjeru

suprotnom od smjera padanja kapi. Prskotine nastaju prskanjem uvis ili u stranu djelovanjem aktivne sile, primjerice zamahom zakrivljenim predmetom ili prskanjem pod pritiskom iz arterije^{14,15}.

Tragove nastale prijenosom krvi dodiranjem na drugi predmet nazivamo otisci ili brisotine^{16,17}. Na taj se način mogu prenijeti otisci prstiju, dlana, stopala, gume vozila te mogu imati individualne značajke, što može pomoći u identifikaciji počinitelja kaznenog djela¹⁸. Brisanjem ili slučajnim povlačenjem dijela tijela ili predmeta po drugom dijelu tijela ili predmeta nastaju brisotine^{19,20}.

Preliminarni testovi za pronalaženje tragova krvi

Pri sumnji da je pronađen biološki trag u biti krvi, prvo ispituje se dvojbu, odnosno, je li uopće riječ o krvi ili o nekoj drugoj obojenoj tvari. Pri tome se koristimo preliminarnim testovima, kojima se zapravo dokazuje hemoglobin u krvi¹.

Dvije su vrste preliminarnih testova za krv, katalitičko krvno testiranje i mikrokristali testovi. Fenolftalein ili Kastle-Meyerov test oblik je katalitičkog krvnog testiranja. Bazira se na aktivnosti hemoglobina sličnoj onoj peroksidaze, naime, katalizira se oksidacija fenolftaleina (bezbojni reducirani oblik fenolftaleina) u fenolftalein, što je vidljivo kao svjetloružičasta boja. To je preliminarni test jer daje lažno pozitivne rezultate sa slinom, gnojem, ekstraktom slada, ekstraktima povrća i solima nekih teških metala²¹. Luminol test je isto tako katalitički krvni test koji se koristi na velikim površinama. Temelji se na reakciji s hematinom, pri čemu luminol luminiscira svjetloplavo, što je najbolje vidljivo u mraku, a luminiscencije traje nekoliko minuta^{22,23}. Stariji tragovi krvi svijetle jače i dulje nego svježja krv. Zbog visoke osjetljivosti pogodan je za pronalazak ispranih, oku nevidljivih tragova krvi²⁴. Daje lažno pozitivne rezultate u prisutnosti soli bakra te s legurama koje sadrže bakar (mesing, bronca)²⁵⁻²⁷. Takayama i Teichmannov test su preliminarni testovi koji se baziraju na stvaranju ljubičastih odnosno smeđih mikrokristala. Doduše, reakcija nastajanja kristala u Teichmannovom testu izostaje kod mrlja na materijalima poput kože, a Takayama test daje lažno negativne rezultate kod obrade starijih krvnih mrlja²¹.

Alternativni izvori svjetla, kao CrimeScope koriste UV, vidljivo i infracrveno svjetlo da izazovu određene tvari da fluoresciraju (svijetle) ili apsorbiraju svjetlo (potamne)¹⁶. Tragovi krvi će na određenim valnim duljinama potamniti²⁸.

Nakon toga određujemo podrijetlo krvi, odnosno određujemo je li krv ljudska ili životinjska.

Identifikacija krvi – serologija

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

ABO tipizacija

Prije uvođenja DNK-a u forenziku druge su metode razvijene za povezivanje bioloških tragova s osobama. Najčešća od tih metoda je ABO tipizacija krvnih grupa. ABO tipizacija određuje specifične antigene prisutne na površini krvnih stanica²⁹. 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 0²⁹.

ABO tipizacija zahtijeva veći uzorak za točno testiranje, puno više nego što je potrebno za sadašnje DNK tehnike. Neki laboratoriji koriste ABO tipizaciju kao isključivi alat u slučajevima kada je dostupna velika količina uzorka. No, s razvojem

bržih i točnijih DNK metoda, većina forenzičkih laboratorija prestala je koristiti ABO testiranje.

Sustav MNS antigena

Nakon otkrića ABO krvnih grupa u stanicama su identificirana još 2 gena (glikoforin A i glikoforin B) na četvrtom kromosomu³¹. Ukupno ti geni kodiraju oko 45 (najpoznatiji su M, N, S i U) bjelančevina (antigena), no ugrubo se svi oni mogu podijeliti u dvije skupine – M i N³². Prema antigenima razlikujemo tri krvne grupe u ljudi: M, N i MN. MNS sustav krvnih grupa u ljudi pod kontrolom je genskog para kodominantnog alela, L^M i L^N. Osobe s krvnom grupom M i krvnom grupom N su homozigoti, dok su osobe s krvnom grupom MN heterozigoti.

Većina inuitske populacije su homozigoti L^M/L^M, dok je ovaj genotip izuzetno rijedak među Abo-ridžinima koji su najčešće homozigoti L^N/L^N.

Rh faktor

Rh antigen je tako nazvan prema majmunu *Rhesus macacus* u čijim se stanicama nalazi isti antigen kao i u čovjeka^{33,34}. 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 označuju se velikim i malim slovima: D, d, C, c, E, e. Nazivaju se podskupinama Rh faktora. Podjela osoba na Rh+ i Rh- bazira se na prisutnosti D antigena. Antigeni Rh podskupina u normalnim uvjetima nemaju svojih protutijela u serumu, no ako osoba dobije krvnu krv prilikom transfuzije, mogu se stvoriti protutijela. Kako se na svakom kromosomu nalaze tri gena Rh podskupina, moguće je osam kombinacija po tri gena (tablica 1).

Od tih kombinacija na svakom kromosomskom paru nalaze se po dvije, odnosno po tri gena na svakom kromosomu. Četiri kombinacije pripadaju Rh+, a četiri Rh-.

Tablica 1. Osam mogućih kombinacija triju gena Rh podskupina

CDE	CdE
CDe	Cde
cDE	cdE
cDe	cde

SPERMA I TRAGOVİ SPERME

Sperma se obično nađe na mjestima seksualnog zlostavljanja ili drugim seksualno motiviranim zločinima i ima ključnu ulogu u identifikaciji počinitelja i povezuje ga s mjestom događaja¹. Sperma je tjelesna tekućina koju produciraju muškarci u svrhu oplodnje. U forenzičke svrhe, sastav sperme može se pojednostaviti u dva dijela: sjemena tekućina i spermiji. Sjemena tekućina je proteini-ma bogata tjelesna tekućina podrijetlom prvenstveno 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 DNK profiliranje.

Spermu možemo tražiti u rodnici žene, žive ili mrtve, na tijelu blizu spolovila, s tragova posteljine, odjeće, papirnatih maramica, prezervativa³⁵. 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. Ako u rodnici ne nađemo spermu, to ne isključuje spolni odnos³⁶.

Preliminarni testovi za pronalaženje tragova sperme

Osnova preliminarne detekcije mrlji od sjemene tekućine je procjena izgleda i upotreba alternativnih izvora svjetla²⁸. Svako područje koje treba ispitati, a veće je od područja koje se inače obrađuje kemijskom analizom (odjeća, rublje i posteljina) mogu se brzo istražiti u smislu potencijalnih mrlja od sperme golim okom. Osušene mrlja od sperme često su bjelkaste do blijedo žute boje. Mrlje od sperme također se mogu vizualizirati pomoću plavog, ultraljubičastog svjetla (također poznatog kao Woodova svjetiljka) ili suvremenog izvora svjetlosti kao što je CrimeScope koji je konfiguriran s optimalnim filtrima valnih duljina²⁸. Pod tim specijaliziranim svjetlima sjemena tekućina će fluorescirati zbog prisutnosti molekula kao što su flavin i kolin-konjugirani proteini. Boja ove fluorescencije će varirati od plave do žute boje, ovisno o korištenoj svjetlosnoj opremi. Postoje mnoge molekule (prirodne i umjetne) koje će fluorescirati na sličan način kao i sjeme, pa je ova tehnika detekcije vrlo

upitna i očito nedostatna. Na intenzitet fluorescencije sperme na odjeći također može (pa i negativno) utjecati vrsta tkanine.

Upravo zbog ovih nedostataka razvijeno je nekoliko kemijskih testova koji se ne temelje na dovoljno pouzdanim principima, niti su njihovi rezultati dovoljno specifični da bi bili išta više od preliminarnih testova.

Test kisele fosfataze (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 Bluea, 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 također sadrže alkalnu fosfatazu.

Detekcijom prostate specifičnog antigena (PSA) za koju sumnjamo da je sperma detektiramo antigen koji u velikim količinama producira prostata. Međutim, PSA se može pronaći u malim količinama u fecesu i znoju, a moguće ga je pronaći u urinu žena i majčinom mlijeku³⁷.

Alternativni izvori svjetla, kao Polilight koriste UV, vidljivo i infracrveno svjetlo da bi izazvali fluorescenciju sperme^{16,28}. Ovisno o vrsti svjetla, boja varira od žute do plave. Ova metoda je preliminarina 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.

Potvrđni testovi za dokazivanje sperme

Christmas tree stain koristi se 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.

Allery i sur. komparativno su izučili tri metode vizualiziranja spermija i ustanovili da u usporedbi s

alkalnim fuksinom, Christmas tree stain i hemalaum-eozin predstavljaju *zlatne standardne* citološke metode za otkrivanje spermija. Čini se da oba ova bojenja jednako uspješno pokazuju spermije, no boja Christmas tree stain ima prednost zbog lakše uočljivosti. Jedan od glavnih faktora koji utječu na otkrivanje spermija bio je interval između ejakulacije i prikupljanja uzorka. U skupini volontera *in-vivo* iz ove studije nema spermija koji bi se citološki mogli dokazati nakon tri dana. Drugi važan čimbenik bio je volumen sperme. Rapid Stain Identification Of Human Semen (RSID™-Semen) identificira antigen specifičan za sjemeni mjehurić ili semonogelin. Taj antigen specifičan je za ljudsku spermu, te tako nema križne reakcije s drugim tjelesnim tekućinama muškaraca i žena ili sa spermom drugih sisavaca^{38,39}. Test također može identificirati spermu iz mrlja koje su bile i u lošim uvjetima. Test detektira najmanje 1 µL ljudske sperme, a rezultati ispitivanja završeni su u roku od 10 minuta⁴⁰.

SLINA

Izvor bioloških tragova za koje sumnjamo da predstavljaju slinu nalazimo na opušcima cigareta, rupčićima, odjeći... U preliminarnom dokazivanju vještači se prisutnost (aktivnost) enzima alfa-amilaze. Vještačenje sline predstavlja i izvor biološkog materijala za određivanje krvne grupe, zbog toga što u slini nalazimo aglutinogen ABO te anti-A i anti-B aglutinine. Krvnu grupu ćemo moći odrediti u 85 % osoba, jer su te osobe tzv. sekretori⁴¹.

Medicinsku pažnju ova tjelesna tekućina može zahvaliti neinvazivnoj prirodi prikupljanja uzorka. Testovi na slini mogu poslužiti kako bi se otkrili markeri određene bolesti, virusne infekcije ili prisutnost lijekova u tijelu. Slina je bogata enzimom alfa-amilaza (ili ptijalin).

Preliminarni testovi za pronalaženje tragova sline

Slina nam je od velikog značaja ako je nađemo na mjestu događaja, na žrtvi seksualnog napada, na opušku cigarete ili oko ruba čaše ili boce.

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 vrlo je slična ljudskoj alfa-amilazi. Test je preliminarni jer će rezultat biti pozitivan u prisutnosti alfa-amilaze.

Potvrđni test koji kombinira Phadebas Test i RSID Test za ljudsku slinu

Kada se Rapid Stain Identification (RSID™) primijeni na ljudsku slinu u kombinaciji s Phadebas testom, smatra se potvrđnim⁴². Ova kombinacija testova otkriva samu molekulu alfa-amilaze iz ljudske sline.

RSID test znao je dati pozitivne rezultate u uzorcima koji sadrže alfa-amilazu iz sisavaca kao što su gorile i štakori⁴³. Pozitivne reakcije također mogu biti u drugim tjelesnim tekućinama, kao što su sjemena tekućina, krv, vaginalni iscjedak, znoj i majčino mlijeko. Visoka reaktivnost ovog testa primijećena je i u uzorcima koji sadrže ljudski izmet te u uzorcima urina. Nepravilna upotreba toaletnog papira i drugi čimbenici koji se odnose na osobnu higijenu, osobito prenošenje sline iz usta, mogu rezultirati lažnim pozitivnim nalazom.

OSTALI TRAGVI HUMANOG PODRIJETLA

U kaznenim djelima najčešće se analiziraju tragovi epitelnih stanica, korijen kose i dlaka, tjelesnih izlučevina, tragovi krvi i dr. Materijal vještačenja koji se najčešće uzima za analizu DNK-a prilikom ovih kaznenih djela je sredstvo njegova izvršenja, razni uporabni predmeti koje je počinitelj ostavio na mjestu događaja, a koji ne pripadaju domaćim osobama. Ako nisu pronađeni vidljivi biološki tragovi u svrhu analize DNK-a zanimljivi su rubovi i hrapave površine sredstva izvršenja kaznenog djela (npr. montirač, kramp, odvijač, provalnički alat i sl.) te površine za koje se pretpostavlja da su u kontaktu s tijelom (npr. kapa, kaciga, odbaćena odjeća i sl.) ili uporabni predmeti počinitelja ostavljeni na mjestu događaja (npr. mobilni telefon, naočale, ključevi i sl.)⁸.

Mokraća, povraćeni sadržaj i fekalije

Tragovi mokraće uzimaju se samo ako su pronađeni u većoj količini (najmanje 10 mL) u posudi/kanti/čaši/boci⁴⁴. Ne uzimaju se tragovi mokraće koji su pronađeni na površinama ili upijeni tragovi mokraće. Povraćeni sadržaj uzima se samo

kada je to iznimno potrebno i to brisanjem vate-
nim štapićem ili struganjem s podloge, ovisno o
tome je li trag u tekućem ili suhom obliku. Fekali-
je se ne uzima niti dostavlja na vještačenje⁴⁵.

Nokti, dlake i kosa

Nokti se uzimaju rezanjem dobro očišćenim škari-
cama na čist bijeli papir. Zatim se zamota u papir i
sprema u papirnati omot⁴⁶. Dlake i kosa najčešći
su tip dokaza koji se nađe na mjestu događaja. Ti-
jekom normalnog ciklusa rasta kosa ispada te se
tako lako prenese tijekom kriminalne radnje. Fo-
renzička analiza kose i dlake može biti od iznimne
važnosti u ispitivanju fizičkih dokaza tako da po-
kazuje da možda postoji povezanost između
osumnjčenika i mjestu događaja ili osumnjčeni-
ka i žrtve; ili pokazuje da nema dokaza za
povezanost osumnjčenika i mjestu događaja ili
osumnjčenika i žrtve. Iako mikroskopskom anali-
zom kose i dlaka nećemo postići identifikaciju,
možemo zaključiti da je dlaka došla od jedne oso-
be isključujući druge te nam ogromna količina i
mikroskopskih i makroskopskih informacija koje
su dostupne analizom kose i dlaka pruža jake
oslobađajuće dokaze^{47,48}.

Ispitivanje kose i dlaka uključuje usporedbu i ana-
lizu morfoloških karakteristika kose. S obzirom na
morfologiju možemo zaključiti je li dlaka ili kosa
ljudskog ili životinjskog podrijetla. Unutar tih dvi-
ju grupa mikroskopskom analizom možemo sa-
znati dodatne podatke o potencijalnom izvoru.
Konačno, možemo i analizirati uzorak nepoznatog
podrijetla s uzorcima kojima znamo podrijetlo.

Tijekom ispitivanja ljudske kose i dlake najprije se
obavljaju makrometrijska i makroskopska, a za-
tim mikroskopska ispitivanja. Makrometrijski i
makroskopski se određuje broj uzoraka, oblik,
duljina, promjena pigmentacije i boja. Mikro-
skopski ispitujemo osnovne dijelove dlake: kuti-
kulu, medulu, debljinu i utvrđujemo prisutnost
nečistoća. Izbjeljivanje kose vodikovim peroksi-
dom dokazuje se diazoreakcijom te se kosa koja
je izbjeljivana oboji crveno. Bojenjem kose boja
se raspodjeljuje po površini vlasi, dok se kod pri-
rodne kose pigment nalazi u dubini, te se prema
meduli povećava. U svijetle kose pigment je ras-
podijeljen 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 bubre-
žast ili trokutast. Zbog djelovanja znoja kutikula
im je oštećena. Dlake brade često su kovrčave i
deblje su od kose. Trepavica ima vretenast i laga-
no povijen oblik.

Kemijskim metodama, a ponekad i na temelju
duljine i kozmetičke obrade (kovrčanja, toniranja,
bojenja) nemoguće je razlikovati kosu muškarca
od kose žene, no metodom DNK-a iz kose i iz dla-
ke s bilo kojeg dijela tijela moguće je odrediti
spol. U novorođenčadi je kosa tanka, nema me-
dulu i rub kutikule slabo je izražen. Kako starimo,
u kosi se smanjuje količina pigmenta te se pove-
ćava primanje zraka i zbog toga kosa posivljuje⁴⁹.

Pregledom razlikujemo je li kosa prekinuta ili
odrezana. Otrgnuta kosa je izduljena, rubovi kuti-
kule su pomaknuti zasebno, a medula je na mje-
stu prekida sužena. Odrezana kosa ima oštre
rubove koji se nakon nekoliko tjedana zaoble.
Prema korijenu kose zaključuje se je li kosa ispala
ili je iščupana⁴⁸. Korijen iščupane kose može biti
oblika sjekire i biti kao obavijen u ovojnici ili može
biti oblika tikvice oko koje se nalazi tkivo. Oko ta-
kvog iščupanog korijena nalaze se kapljice krvi i
tkivo. Kosa koja je ispala ima stanjen, osušen ko-
rijen 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 ako se rezultati međusob-
no podudaraju ili razlikuju.

ANTIKONTAMINACIJSKE MJERE

Kontaminacija tragova

Kontaminacija bioloških tragova je moguća u
svim dijelovima očevida i kasnije istrage, tj. prili-
kom pretrage mjesta događaja, prilikom obavlja-
nja očevida, pronalaska, uzimanja, sušenja te
pakiranja bioloških tragova. Tragove je moguće
kontaminirati stranim biološkim materijalom (od-
nosno, materijalom podrijetlom od osoba koje
uzimaju uzorke), međusobnim kontaktom spori-
nih tragova te međusobnim tragom spornih tra-
gova i nespornih uzoraka.

Sve osobe prisutne na mjestu događaja moraju nositi propisanu zaštitnu opremu; jednokratne rukavice koje valja mijenjati prilikom uzimanja različitih tragova. Isto tako, potrebno je nositi masku za lice, kapu, kombinezon i nazuvke za obuću⁵⁰⁻⁵³. Predmeti i tragovi oštećene osobe ne smiju doći u kontakt s predmetima i tragovima osumnjičene osobe i mjesta događaja. 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

Prilikom uzimanja bioloških tragova potrebno je provoditi antikontaminacijske mjere i mjere samozaštite. Sve osobe prisutne na mjestu zločina moraju nositi propisanu zaštitnu opremu: jednokratne rukavice, masku za lice, kapu, kombinezon i nazuvke za obuću. Svaki biološki materijal pronađen na mjestu zločina treba tretirati kao potencijalno infektivan.

jednokratnu upotrebu potrebno je između svake upotrebe više puta prebrisati vatom navlaženom 70 %-tnim etanolom.

Mjere samozaštite

Biološki materijal pronađen na mjestu događaja potrebno je tretirati kao potencijalno infektivan^{54,55}. Uz korištenje mjera zaštite od kontaminacije tragova potrebno je koristiti i mjere samozaštite, konkretno otvorene rane valja zaštititi osobnim sredstvima zaštite – vodonepropusnim omotom i rukavicama. Ruke treba prati redovito, a za vrijeme uzimanja bioloških tragova, kao i za trajanja očevida općenito, ne smije se ni jesti ni 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 vještačenje⁵⁶.

Postmortalni uzorci

Vrsta nespornog uzorka koji će služiti za identifikaciju pronađenog mrtvog tijela ovisi o protoku vremena od smrti do obdukcije te o uvjetima u kojima je mrtvo tijelo bilo od trenutka smrti⁵⁷. Postmortal-

ni uzorci su uzorci koji se uzimaju s tijela nakon smrti, a služe za identifikaciju pronađenog mrtvog tijela⁵⁸⁻⁶⁰. 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. Ako je od smrti prošlo više od četiri dana i došlo do propadanja mišićnog tkiva, uzima se komad mišićnog tkiva volumena oko 3 cm iz dubljih dijelova mišića. Nakon propadanja mišićnog tkiva uzima se dio bedrene kosti duljine oko 10 cm ili 3 do 5 zdravih zuba⁶¹.

Obducent uzima sve postmortalne uzorke za identifikaciju za vrijeme obdukcije.

Postupak testiranja očinstva analizom DNK-a

Budući da je DNK vještačenje komparativni postupak, kada se utvrdi DNK profil spornog traga, uspoređi se s DNK profilima nespornih uzoraka. Isto se radi i pri postupku testiranja očinstva analizom DNK-a. Prema važećem Pravilniku o načinu uzimanja uzoraka biološkog materijala i provođenja molekularno-genetske analize (NN 120/14)⁶² doktor medicine ili drugi zdravstveni djelatnik u prisutnosti ovlaštene službene osobe Ministarstva unutarnjih poslova uzima uzorak krvi ubodom u jagodicu prsta na filter karticu; za potrebe molekularno-genetske analize s mrtvog tijela izuzimaju se 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); ako predstavlja jedini dostupan uzorak, za molekularno-genetsku analizu pogodno je i tkivo iz parafinskog bloka⁶³.

Ako se DNK analiza provodi na uzorku krvi, nesporni uzorak se suši na sobnoj temperaturi i pakira u papirni omot, iz usne šupljine se uzima tako da se papirnatim štapićem nekoliko puta protrlja bukalna sluznica, a uzorak kose ili dlaka uzima se kada je to potrebno i treba ih staviti na čist bijeli papir, zamotati u papir te pohraniti u papirnatu omot¹.

OZNAČAVANJE, PAKIRANJE I POHRANA BIOLOŠKIH TRAGOVA

Nakon što biološki tragovi budu pronađeni i izuzeti, a prije nego budu upućeni na vještačenje potrebno je sav materijal za vještačenje pravilno označiti i pakirati. Svaki predmet i trag potrebno je pakirati u zaseban papirnat omot. Omote valja označavati isključivo arapskim brojkama u rastućem nizu, tako da se brojevi u jednom predmetu ne ponavljaju bez obzira na veći broj dopuna vještačenja, više mjesta događaja, sudionike događaja itd. Treba izbjegavati obilježavanje slovima ili kombinacijom slova i brojki.

Kriminalistički tehničar, odnosno osoba koja obrađuje mjesto određenog događaja, valja biti na oprezu kako se na vještačenje ne bi dostavljali omoti koji uopće nisu označeni ili nisu označeni sukladno nalogu^{64,65}.

Tragove izuzete struganjem, tragove nalik na vlasi/dlake i vrlo sitne tragove treba prvo pakirati u čist bijeli papir, a potom u papirnat omot. Svaki omot potrebno je zalijepiti posebnom ljepljivom trakom ili običnom selotejp trakom po cijelom rubu i potpisati preko cijelog ruba i trake (može se i dodatno „zaklamati“). Materijal za vještačenje izuzet s mjesta događaja, od oštećene ili od osumnjičene osobe, ne smije se sušiti tako da se tragovi i predmeti međusobno dodiruju. Nikad se ne bi smjelo pakirati više tragova u jedan omot, jer može doći do kontaminacije. Materijal koji je predmet vještačenja nikako ne bi trebalo pakirati u plastične vreće.

Svi biološki tragovi izrazito su osjetljivi na uvjete u kojima se nalaze, konkretno nepovoljni uvjeti ubrzavaju njihovu degradaciju, što onemogućuje daljnje vještačenje. Upravo je stoga važno sve biološke tragove u najkraćem vremenu uzeti, osušiti i pohraniti. Općenito, sve biološke tragove treba prije vještačenja čuvati na suhom, prozračnom, hladnom i tamnom mjestu. Ako je tragove nemoguće osušiti, potrebno ih je zamrznuti i u prijenosnoj rashladnoj posudi u najkraćem mogućem vremenu otpremiti na vještačenje.

Maločas spomenuti nepovoljni uvjeti u kojima se biološki tragovi mogu nalaziti podrazumijevaju vodu, vlagu, visoku temperaturu, blizinu grijaćih tijela, sunčevu svjetlost i ostale vrste zračenja. Isto tako, nepovoljno na prikupljeni biološki ma-

terijal mogu utjecati i podloge, poput zemlje, asfalta, betona...

ZAKLJUČAK

Biološki tragovi mogu biti ljudskog, životinjskog ili biljnog podrijetla. Sporni tragovi pronalaze se na mjestu događaja te na predmetima ili osobama koje su povezane s mjestom događaja ili počinjenim kaznenim dijelom. Nesporni uzorci uzimaju se od osumnjičenih, oštećenih i svih ostalih osoba koje su mogle doći u kontakt s tragovima ili predmetima na mjestu događaja.

Prisutnost krvi na dokaznim predmetima ključna je za utvrđivanje krivnje ili nevinosti u kaznenom postupku. Interpretacija tragova krvi može nam pomoći u rekonstrukciji mjesta događaja. Sudskomedicinska uporaba kvalitativnih obilježja krvi bila je često korištena metoda prije uvođenja DNK analize, a danas se na tim kvalitativnim osobinama temelje presumptivni testovi koji se primjenjuju u kriminalističkoj obradi mjesta događaja.

Pronalaženje sperme na mjestu događaja upućuje na seksualni ili seksualno motivirani zločin. Trajanje života spermija u rodnici žene je 5 do 20 sati. Ako u rodnici ne nađemo spermu, to ne isključuje spolni odnos. Osim što je jednostavno dostupna za niz sudskomedicinskih ispitivanja, u slini 85 % populacije možemo odrediti AB0 krvnu grupu, a to je jedan od razloga zašto stanice bukalne sluznice koristimo za DNK analizu.

Od bioloških tragova u čvrstom agregatnom stanju, ako se izuzmu sasušene izlučevine, na mjestu događaja se najčešće nalaze dlake i kosa. Forenzičkom analizom kose i dlaka možemo povezati osumnjičenika i mjesto događaja ili osumnjičenika i žrtvu, i to tako da, ako kosa ili dlaka sadrže korijen, možemo izolirati DNK.

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 događaja treba tretirati kao potencijalno infektivan. Potrebna je pravilna pohrana bioloških tragova da bi se spriječila njihova degradacija.

Izjava o sukobu interesa: autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Anđelinović Š, Sutlović D. Mjesto događaja i analiza tragova nađenih u kriminalističkoj obradi. In: Primorac D (ed). Analiza DNA u sudskoj medicini i pravosuđu. Zagreb: Medicinska naklada, 2008;72-90.
2. Pavišić B. Uvod u kriminalistiku. 1st Edition. Zagreb: Ministarstvo unutarnjih poslova Republike Hrvatske, 2002;14-132.
3. Whitehead PH. A Historical Review of the Characterization of Blood and Secretion Stains in the Forensic Science Laboratory Part One: Bloodstains. *Forensic Sci Rev* 1993;5:35-51.
4. Kuta E, Bohanec B, Dubas E, Vizintin L, Przywara L. Chromosome and nuclear DNA study on *Luzula* – a genus with holokinetic chromosomes. *Genome* 2004;47:246-56.
5. Roark LM, Hui AY, Donnelly L, Birchler JA, Newton KJ. Recent and frequent insertions of chloroplast DNA into maize nuclear chromosomes. *Cytogenet Genome Res* 2010;129:17-23.
6. Toothman MH, Kester KM, Champagne J, Cruz TD, Street WS 4th, Brown BL. Characterization of human DNA in environmental samples. *Forensic Sci Int* 2008;178:7-15.
7. Karas Ž. Sudska praksa o policijskom postupanju: tjelesni pregled i uzimanje bioloških uzoraka. *Policija i sigurnost* 2010;19:115-9.
8. Car I. Touch DNA Analysis. Split: Sveučilišni odjel za forenzične znanosti, 2012, PhD thesis.
9. Primorac D, Schanfield MS. Application of forensic DNA testing in the legal system. *Croat Med J* 2000;41:32-46.
10. Voskoboinik L, Amiel M, Reshef A, Gafny R, Barash M. Laundry in a washing machine as a mediator of secondary and tertiary DNA transfer. *Int J Legal Med* 2017;1-6.
11. Wonder AY. Bloodstain Patterns: Identification, Interpretation and Application. 1st Edition. Cambridge: Academic Press, 2015;33-55.
12. Yen K, Thali MJ, Kneubuehl BP, Peschel O, Zollinger U, Dirnhofer R. Blood-spatter patterns: hands hold clues for the forensic reconstruction of the sequence of events. *Am J Forensic Med Pathol* 2003;24:132-40.
13. de Bruin KG, Stoel RD, Limborgh JC. Improving the point of origin determination in bloodstain pattern analysis. *J Forensic Sci* 2011;56:1476-82.
14. Bevel T, Gardner RM. Bloodstain pattern analysis with an introduction to crime scene reconstruction. 3rd Edition, Boca Ranton: CRC press, 2008;70-126.
15. Buck U, Kneubuehl B, Näther S, Albertini N, Schmidt L, Thali M. 3D bloodstain pattern analysis: ballistic reconstruction of the trajectories of blood drops and determination of the centres of origin of the bloodstains. *Forensic Sci Int* 2011;206:22-8.
16. Lin AC, Hsieh HM, Tsai LC, Linacre A, Lee JC. Forensic applications of infrared imaging for the detection and recording of latent evidence. *J Forensic Sci* 2007;52:1148-50.
17. Sinelnikov A, Reich K. Materials and methods that allow fingerprint analysis and DNA profiling from the same latent evidence. *Forensic Sci Int Genet* 2017;Suppl. 6:e40-2.
18. Fregeau CJ, Germain O, Fourney RM. Fingerprint enhancement revisited and the effects of blood enhancement chemicals on subsequent profiler Plus fluorescent short tandem repeat DNA analysis of fresh and aged bloody fingerprints. *J Forensic Sci* 2000;45:354-80.
19. Vernon DW, DiMaggio JA. Forensic podiatry: principles and methods. 1st Edition. Boca Ranton: CRC Press, 2017;158-206.
20. Yuen SKY, Taylor MC, Owens G, Elliot DA. The Reliability of Swipe/Wipe Classification and Directionality Determination Methods in Bloodstain Pattern Analysis. *J Forensic Sci* 2017;62:1037-42.
21. Finnis J, Lewis J, Davidson A. Comparison of methods for visualizing blood on dark surfaces. *Sci Justice* 2013;53:178-86.
22. Laux DL. Effects of luminol on the subsequent analysis of bloodstains. *J Forensic Sci* 1991;36:1512-20.
23. Milosavljević M. Luminolski test – forenzički aspekt. *Journal of Criminal Justice Issues (Kriminalistické teme)* 2007;6.
24. Dotsikas Y, Loukas YL. Effect of the luminol signal enhancer selection on the curve parameters of an immunoassay and the chemiluminescence intensity and kinetics. *Talanta* 2007;71:906-10.
25. Abbasi S, Bahiraei A, Abbasai F. A highly sensitive method for simultaneous determination of ultra trace levels of copper and cadmium in food and water samples with luminol as a chelating agent by adsorptive stripping voltammetry. *Food Chem* 2011;129:1274-80.
26. Du J, Li H. Sensitive chemiluminescence determination of thirteen cephalosporin antibiotics with luminol-copper(II) reaction. *Appl Spectrosc* 2010;64:1154-9.
27. Fu Z, Li Z, Xie H, Li T, Li C. Highly sensitive trivalent copper chelate-H₂O₂ system for CE-chemiluminescent detection of luminol-type compounds. *Electrophoresis* 2010;31:3342-5.
28. Sterzik V, Panzer S, Apfelbacher M, Bohnert M. Searching for biological traces on different materials using a forensic light source and infrared photography. *Int J Legal Med* 2016;130:599-605.
29. Poole J, Daniels G. Blood group antibodies and their significance in transfusion medicine. *Transfus Med Rev* 2007;21:58-71.
30. Jiang X, He J, Jia F, Shen H, Zhao J, Chen C et al. An integrated system of ABO typing and multiplex STR testing for forensic DNA analysis. *Forensic Sci Int Genet* 2012;6:785-97.
31. Horjan I, Barbaric L, Mrcic G. Applicability of three commercially available kits for forensic identification of blood stains. *J Forensic Leg Med* 2016;38:101-5.
32. Reid ME. MNS blood group system: a review. *Immunohematology* 2009;25:95-101.
33. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 2000;95:375-87.
34. Iwamoto S. Molecular aspects of Rh antigens. *Leg Med (Tokyo)* 2005;7:270-3.
35. Maynard P, Allwell K, Roux C, Dawson M, Royds D. A protocol for the forensic analysis of condom and personal lubricants found in sexual assault cases. *Forensic Sci Int* 2001;124:140-56.
36. Schulz MM, Buschner MG, Leidig R, Wehner HD, Fritz P, Häbig K et al. A new approach to the investigation of

- sexual offenses—cytoskeleton analysis reveals the origin of cells found on forensic swabs. *J Forensic Sci* 2010;55:492-8.
37. Hochmeister MN, Budowle B, Rudin O, Gehrig C, Borer U, Thali M et al. Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. *J Forensic Sci* 1999;44:1057-60.
 38. Martínez P, Santiago B, Alcalá B, Atienza I. Semen searching when sperm is absent. *Sci Justice* 2015;55:118-23.
 39. Singh B, Gautam I, Yadav VK, Mohapatra BK. Detection of Human seminal stains in one minute by modified acid phosphatase test. *Eur J Forensic Sci* 2015;2:15.
 40. Boward ES, Wilson SL. A comparison of ABACard((R)) p30 and RSID-Semen test kits for forensic semen identification. *J Forensic Leg Med* 2013;20:1126-30.
 41. Takizawa N, Ohba Y, Mukoyama R, Komuro T, Mukoyama H, Takei T. Determination of ABO blood groups from saliva and saliva stains by an indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using monoclonal antibodies. *Nihon Hoigaku Zasshi* 1989;43:294-302.
 42. Virkler K, Lednev IK. Analysis of body fluids for forensic purposes: from laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. *Forensic Sci Int* 2009;188:1-17.
 43. Smiley T, Spelman L, Lukasik-Braun M, Mukherjee J, Kaufman G, Akiyoshi DE et al. Noninvasive saliva collection techniques for free-ranging mountain gorillas and captive eastern gorillas. *J Zoo Wildl Med* 2010;41:201-9.
 44. Castella V, Dimo-Simonin N, Brandt-Casadevall C, Robinson N, Saugy M, Taroni F et al. Forensic identification of urine samples: a comparison between nuclear and mitochondrial DNA markers. *Int J Legal Med* 2006;120:67-72.
 45. Ladd C, Lee H. The use of biological and botanical evidence in criminal investigations. *In: Coyle HM (ed). Forensic botany: principles and applications to criminal casework*. Boca Ranton: CRC Press, 2004;97-117.
 46. Baumgartner MR. Nails: an adequate alternative matrix in forensic toxicology for drug analysis? *Bioanalysis* 2014;6:2189-91.
 47. Birngruber C, Ramsthaler F, Verhoff MA. The color(s) of human hair—forensic hair analysis with SpectraCube. *Forensic Sci Int* 2009;185:e19-23.
 48. Barroso M, Gallardo E, Vieira DN, Lopez-Rivadulla M, Queiroz JA. Hair: a complementary source of bioanalytical information in forensic toxicology. *Bioanalysis* 2011;3:67-79.
 49. Sinclair RD. Healthy hair: what is it? *J Investig Dermatol Symp Proc* 2007;12:2-5.
 50. Schwendener G, Moret S, Cavanagh-Steer K, Roux C. Can “contamination” occur in body bags?—The example of background fibres in body bags used in Australia. *Forensic Sci Int* 2016;266:517-26.
 51. Basset P, Castella V. Lessons from a study of DNA contaminations from police services and forensic laboratories in Switzerland. *Forensic Sci Int Genet* 2017;33:147-54.
 52. Pawlowski W, Matyjasek L, Cieslak K, Karpinska M. Contamination with explosives in analytical laboratory procedure. *Forensic Sci Int* 2017;281:13-7.
 53. Pickrahn I, Kreindl G, Muller E, Dunkelmann B, Zahrer W, Cemper-Kiesslich J et al. Contamination incidents in the pre-analytical phase of forensic DNA analysis in Austria—Statistics of 17 years. *Forensic Sci Int Genet* 2017;31:12-8.
 54. World Health Organization. *Laboratory biosafety manual*. 3rd Edition. Geneva: World Health Organization, 2004;20-5.
 55. Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety: principles and practices*. 1st Edition. Washington DC: ASM Press, 2006; 328-512.
 56. Zaki AN. Biosafety and biosecurity measures: management of biosafety level 3 facilities. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36:S70-4.
 57. Parsons T, Weedn V. Preservation and recovery of DNA in postmortem specimens and trace samples. *In Haglund W, Weedn VW (eds). Advances in Forensic Taphonomy: The Fate of Human Remains*. New York: CPR Press, 1996;109-38.
 58. Gojanović MD, Sutlović D. Skeletal remains from World War II mass grave: from discovery to identification. *Croat Med J* 2007;48:520-7.
 59. Šlaus M, Strinović D, Pečina-Šlaus N, Brkić H, Baličević D, Petrovečki V et al. Identification and analysis of human remains recovered from wells from the 1991 War in Croatia. *Forensic Sci Int* 2007;171:37-43.
 60. Primorac D, Andelinovic S, Definis-Gojanovic M, Drmic I, Rezić B, Baden MM et al. Identification of war victims from mass graves in Croatia, Bosnia, and Herzegovina by the use of standard forensic methods and DNA typing. *J Forensic Sci* 1996;41:891-4.
 61. Dumančić J, Kaić Z, Njemirovskij V, Brkić H, Zečević D. Dental identification after two mass disasters in Croatia. *Croat Med J* 2001;42:657-62.
 62. Ministarstvo pravosuđa. Pravilnik o načinu uzimanja uzoraka biološkog materijala i provođenja molekularno-genetske analize. *NN* 120/2014;2292.
 63. Primorac D, Primorac D, Butorac S-S, Adamović M. Analiza DNA u sudskoj medicini i njezina primjena u hrvatskome kaznenopravnom sustavu. *Hrvatski ljetopis za kazneno pravo i praksu* 2009;16:3-26.
 64. Lee HC, Ladd C, Scherczinger CA, Bourke MT. Forensic applications of DNA typing: part 2: collection and preservation of DNA evidence. *Am J Forensic Med Pathol* 1998;19:10-8.
 65. Veić P. The Normative Regulation of Storing, Processing and Keeping Data Stemming From Molecular Genetics Analysis in the Republic of Croatia. *Policija i sigurnost* 2013;21:789-90.