

RECOVERY OF BIOLOGICAL TRACES INTENDED FOR DNA ANALYSIS: THE ADVANTAGES OF USING A SIMPLE KIT

Ricky ANSELL

SKL, National Laboratory of Forensic Science, Linköping, Sweden

ABSTRACT: Modern techniques allow DNA analysis of small biological samples, potentially resulting in very strong scientific evidence. The whole process of handling scientific evidence such as biological traces (blood, saliva, hair and semen), from sampling at the crime scene up to analysis at the forensic laboratory, requires high standards of quality and reliability. However, accreditation of forensic laboratories – to maintain and support high quality standards – does not usually encompass crime scene sampling and the handling of material before it reaches the laboratory. By using standardised and approved materials and containers for crime scene sampling a high level of quality can be maintained – “ready-to-use kits”, which also contain relevant guidelines, facilitate accomplishment of this task.

KEYWORDS: DNA technology; Evidence sampling; DNA kit; Standardisation; Volume crime.

*Z Zagadnień Nauk Sądowych, z. XLVIII, 2001, 98–108
Received 11 September 2001; accepted 29 October 2001*

INTRODUCTION

The value of biological traces as scientific evidence in cases of crime has risen dramatically in just a decade. Modern DNA techniques have truly revolutionised the forensic arena and today, in many cases, a matching DNA profile is as undisputed as a (matching) fingerprint. Large samples of biological traces that yielded rather ineffectual scientific evidence after intensive labour have been replaced by minute samples that result in powerful evidence and are at the same time both labour efficient and cost effective. The arena of use has correspondingly broadened – from being restricted to serious crime cases, it now includes and, indeed, is dominated by volume crime, also known as bulk crime (e.g. burglary and theft).

The use of forensic DNA analyses, especially regarding volume crime, has been further enhanced by the introduction of national DNA databases, enabling DNA profiles from analysed trace samples with unknown perpetrators to be computerised and routinely compared. Databasing is effec-

tively applied not only in serious crime but also volume crime: in fact, the major impact in terms of case numbers and database matches is in volume crime cases [1, 4]. Introduction of DNA databases has increased DNA case numbers dramatically in Sweden and other countries [4]. This has meant that, since potential DNA evidence from (especially volume) crimes is collected routinely, less experienced crime scene examiners are becoming involved.

The use of modern DNA techniques and national DNA databases in combination with forensic laboratories that go through the process of laboratory accreditation and certification of staff [3], have necessitated focusing on aspects of quality and standardisation concerning evidence sampling at crime scenes and further prelaboratory handling. A general standardisation is a very intricate issue, and crime scenes differ in size as well as complexity. One way to specifically standardise sampling of biological traces is to utilise a premade kit. There are several examples of available “ready-to-use” kits intended for forensic purposes, among them kits for sampling of potential gun shot residues, sampling for drug and alcohol blood status, DNA reference sample kits, sexual assault kits and crime scene DNA kits. In a previous paper [2], unequivocal experiences with a “ready-to-use” kit for evidence sampling in cases of sexual assaults were presented. In this paper a simple sampling kit is presented, which is intended for the collection of biological traces at crime scenes.

SAMPLING DNA EVIDENCE

For analytical purposes, the “line of custody” of a particular crime scene stain should prove to be uninterrupted and this line, off course, begins at the crime scene. Firstly, the crime scene in question must be secured awaiting examination and evidence removal. Samples must then be collected and wrapped up properly – traces should be gathered in adequate amounts and placed in appropriate vessels avoiding unwanted degradation or contamination. They should also be labelled, registered and handled in such a way that minimises any potential risk of mixing. Sample integrity may necessitate security seals on the containers used; however, so far in Sweden there have been no requests for such seals. Clearly, quality aspects such as these are highly significant irrespective of crime, even though crime scenes are usually less complex in bulk crime cases.

As general practice, a biological stain should be recovered either by collecting part of, or all of a given material, or by recovering an adequate specimen of the stain in question. Smaller objects should always be collected intact. To mechanically scrape the stain off the surface inflicts potential losses

as well as increases possible risks of contamination. Dry or still wet stains attached to solid surfaces are most accurately removed using damp or dry cotton swabs, whereas stains located on soft material, e.g. textiles, should not be swabbed but cut out or removed intact. Recovered biological stains on one or sometimes two cotton swabs, are normally more than enough for DNA analysis.

Damp material must dry, and when considering recovered biological stains on damp swabs two pertinent issues must be considered. First, if the recovered specimen is placed in, for instance, a tight glass (plastic) container, contamination risk is minimised, but aeration is eradicated and degradation may occur due to putrefaction. On the other hand, if it is placed in an aerated container such as a paper envelope or non-airtight plastic box, the sample will not become degraded but might leak through and thereby contaminate nearby containers/materials. A box of tempered plastic might also induce electrical charges on the specimen, especially blood stains recovered by scraping, thereby causing the specimen to spread out all around. Secondly, a recovered trace sample or cut-out piece of material should not, unless extreme caution and control can be exercised, be removed from the initial container in order to dry (whether it is to be placed in a new container or put back in the original one). This is simply because mixing of specimens may occur. Fortunately, nowadays alternatives are available, such as aerated containers in which the sample can dry without leakage, thereby preventing degradation or mixing but also granting sample integrity. Consequently, once the evidence has been put inside, it need not be removed again until examined and analysed at the forensic laboratory.

DNA KIT

The DNA kit available in Sweden was originally put together in 1999, by forensic biologists from SKL (National Laboratory of Forensic Science), crime scene examiners from Stockholm and a crime scene equipment manufacturer also responsible for the sexual assault kit used in Sweden [2]. As with the sexual assault kit, SKL is responsible for all up-dating and technical support.

The DNA kit contents are displayed and described in Figure 1. Printed inside the carton lid are simple guidelines for trace recovery and packaging, covering different traces and physical conditions. The information given also covers further handling of the recovered specimens. The kit is constructed for the sampling of wet and dry stains of blood, saliva and semen as well as hair and small pieces of bone or soft tissue. Smaller objects such as cigarette butts and pieces of glass can also be collected, as well as cut-out

pieces of, for instance, stained textiles or wallpaper (a scalpel is supplied). The contents of one DNA kit allow collection of roughly ten stains or objects.



Fig. 1. The Swedish DNA kit contains the following items; Cottons swabs and corresponding “topspacks” (containers), envelopes, water ampoules, a scalpel, a pipette, wooden sticks (dental), glass tubes and a pair of disposable latex gloves. In addition, guidelines for sampling, packaging and further handling of stains to be collected, are printed inside the lid.

As with most “ready-to-use” kits, most of the items included are by themselves of no special interest; it is only when put together in a handy box with relevant instructions that they assume a special value. One individual item in this set is, however, constructed in a unique way – the container

(“topspack”) for damp cotton swabs consists of a bilayered aerated paperlike wrapper that does not leak. Leakage might occasionally occur with a soaked cotton swab when put under physical pressure, but even under these conditions leakage is kept to a minimum. Within the “topspack” are two slender metal strips enabling a safe folding of the wrapper.

EXPERIENCES WITH DNA KIT AND “TOPSPACK”

Sample individualisation (through labelling) is of great importance for integrity; use of the Swedish DNA kit, and especially the cotton swab container “topspack” itself has led to more detailed numbering (case number and sample number) and description (e.g. stain location) of recovered biological trace samples than previously. The attached labels obviously encourage the crime scene sampler in a way that, in general, has not been achieved using other nonlabelled alternatives.

Sample degradation because of incorrect packaging in closed airtight containers is essentially abolished. The leakage of moist or soaked samples through paper envelopes, potentially causing contamination, does not normally occur since the package used does not leak (see above) under common conditions.

Laboratory handling itself has become simplified and better as most trace samples examined today are collected on cotton swabs and kept in a “topspack”. The large selection of different types of containers previously used had a negative influence on standard handling. The container itself is also easy to handle because it can be simply reclosed after presumptive testing and sampling for DNA analysis and due to the inbuilt metal strips the package does not fold open simultaneously.

One negative experience associated with the kit, of less magnitude, is a minor increase in stain samples collected with cotton swabs that normally should have been recovered by other means. Caution must thus be exercised, as not all stains are optimally collected by a damp or dry cotton swab, depending on for instance the background surface (see above). In these cases instructive feedback to the sampler is important.

An additional positive feature is that the kit can easily be modified in order to meet special circumstances or demands, but remain within the framework of standardisation – thus retaining a high quality level. For instance, one variant of the kit has been specially designed for processing small objects rather than stains. Another variant contains bundles of “topspacks” and distilled water ampoules only, intended for massive sampling occasions or to be used by the experienced crime scene examiner.

CONCLUDING REMARKS

There are three major points presented in this paper that support the use of a standardised DNA kit for adequate sampling of biological traces at crime scenes.

- Primarily, the present DNA techniques in use. These allow minute samples to be analysed cost effectively also yielding very powerful scientific evidence.
- Secondly, aspects of quality assurance (QA) – since forensic accreditation and certification set high quality standards at the forensic laboratories that in principle should be extended all the way to the crime scene itself.
- Thirdly, the emergence of national DNA databases – these, nowadays, in combination with the new, efficient, DNA techniques are mainly applied to bulk crime and therefore, in many cases, involve less experienced crime scene examiners in the collection of biological traces.

In addition the inherent advantages of “ready-to-use” kits, such as the crime scene DNA kit, can be summarised as follows:

- A kit offers the crime scene examiner, irrespective of experience level, a very simple but still adequate option to professionally collect and handle relevant and potential biological trace evidence.
- Labelling and the continuing handling of biological evidence is simplified and sample integrity guaranteed, by the custom designed containers.
- All forthcoming changes or modifications concerning sampling utensils, sampling routines and material handling reach all kit users instantly.
- A “ready-to-use” kit, if carefully assembled and approved, forms a general basis for standardisation since all users obtain identical materials, support and information.

Acknowledgements:

This paper is dedicated to my late colleague Stefano Giulianelli.

References:

1. Ansell R., DNA-undersökningarna fortsätter öka, *Kriminalteknik* 2001, vol. 2, p. 15.
2. Ansell R., Giulianelli S., The rape case investigation; experiences with standardised sexual assault kits in Sweden, *Z Zagadnień Nauk Sądowych* 2000, z. XLIV, s. 85–98.

3. Kopp I., Quality, quality assurance, and certification, *Z Zagadnień Nauk Sądowych* 1999, z. XL, s. 7–17.
4. Schneider P. M., Martin P. D., Criminal DNA databases: the European situation, *Forensic Science International* 2001, vol. 119, pp. 232–238.

UJAWNIANIE I ZABEZPIECZANIE ŚLADÓW BIOLOGICZNYCH DO ANALIZY DNA: KORZYŚCI ZE STOSOWANIA PROSTEGO ZESTAWU

Ricky ANSELL

WSTĘP

W ostatniej dekadzie całkowicie zmieniły się możliwości dowodowego wykorzystania śladów biologicznych. Współczesne metody analizy DNA zrewolucjonizowały nauki sądowe i dzisiaj w wielu sprawach profil DNA jest dowodem tak bezspornym jak odcisk palca. Większe próbki śladów biologicznych, które uprzednio należały do raczej „słabych” dowodów, po mozolnej pracy badawczej zmieniły się w mikroskopijne próbki wymagające mniejszego nakładu pracy i mniejszych nakładów finansowych, a dające w efekcie „mocne” dowody. Metody te, stosowane dawniej tylko w sprawach o poważne przestępstwa, obecnie upowszechniły się i są stosowane także w sprawach o stosunkowo drobne przestępstwa, takie jak np. kradzież czy kradzież z włamaniem.

Zastosowanie analizy DNA, zwłaszcza w takich sprawach, zostało upowszechnione przez wprowadzenie narodowych baz danych umożliwiających rutynowe, komputerowe porównywanie próbek ze śladów z profilami nieznanymi sprawców. Korzystanie z baz danych jest pożyteczne nie tylko w przypadku poważnych przestępstw, lecz także w przypadku sprawców przestępstw drobnych. W istocie korzyści wypływające z zastosowania baz danych DNA określane w liczbach spraw i liczbach identyfikacji odnoszą się głównie do sprawców owych drobnych przestępstw [1, 4]. Wprowadzenie baz danych istotnie zwiększyło w Szwecji i w innych krajach liczbę spraw, w których wykorzystano dowody z analizy DNA [4]. Problem stanowi jednak fakt, iż mimo rutynowego zabezpieczania śladów biologicznych, czynność ta jest wykonywana przez niedoświadczonych techników kryminalistycznych.

Współczesne techniki analizy DNA i krajowe bazy danych wespół z laboratoriami nauk sądowych, które przechodzą proces akredytacji i certyfikacji [3], uzasadniają zajęcie się problemem jakości i standaryzacji ujawniania i zabezpieczania śladów na miejscu zdarzenia oraz dalszego, przedlaboratoryjnego z nimi postępowania. Standaryzacja jest skomplikowanym problemem, a miejsca zdarzeń różnią się co do ich złożoności. Jedną z dróg standaryzacji procedur ujawniania i zabezpieczania próbek śladów biologicznych jest używanie specjalnego zestawu. Istnieje kilka takich „gotowych do użycia” zestawów opracowanych dla celów sądowych, między innymi są to zestawy do zabezpieczania śladów powystrzałowych i próbek narkotyków oraz alkoholu, próbek porównawczych DNA, zestawy do oględzin w przypadku przestępstw seksualnych i zestawy do próbek dowodowych DNA. W poprzedniej pracy [2] zaprezentowano doświadczenia z „gotowym do użycia” zestawem do pobierania próbek w przypadku przestępstw seksualnych. Niniejszy artykuł dotyczy prostego zestawu do zabezpieczania śladów biologicznych na miejscu zdarzenia.

POBIERANIE PRÓBEK DNA DO BADAŃ

Dla celów analitycznych proces postępowania ze śladem pochodzącym z miejsca zdarzenia nie powinien być przerywany, a zaczyna się on oczywiście na miejscu zdarzenia. Miejsce to należy chronić nie tylko przed dokonaniem oględzin. Ślady muszą być ujawnione i zabezpieczone w sposób właściwy, w odpowiedniej ilości i umieszczone w odpowiednich pojemnikach zabezpieczających przed ich degradacją i kontaminacją. Powinny one być opisane, zarejestrowane i przechowywane w warunkach, które minimalizują ryzyko ich pomieszania. W trosce o integralność próbki można opatrzyć pojemnik pieczęcią, ale, jak dotychczas, w Szwecji nie jest to obligatoryjne. Oczywiście takie wymogi jakościowe są niezwykle istotne niezależnie od rodzaju przestępstwa, nawet jeśli miejsce zdarzenia w przypadku drobnego przestępstwa stwarza mniej problemów dla ekipy prowadzącej oględziny.

Praktyka nakazuje, aby plama biologiczna była zabezpieczona razem z częścią lub całością danego materiału albo przez pobranie odpowiedniej próbki śladu. Mniejsze obiekty powinny być zabezpieczone bez ich naruszania. Mechaniczne zdrapywanie plamy z badanej powierzchni może bowiem skutkować potencjalnymi ubytkami, jak również zwiększa ryzyko kontaminacji. Suche albo jeszcze mokre plamy ze stałego podłoża powinny być usuwane przy użyciu wilgotnych albo suchych tamponów, podczas gdy plamy na miękkim materiale, np. na tkaninach, nie powinny być traktowane tamponami, lecz wycięte albo pozostawione nietknięte. Biologiczne plamy zabezpieczone na jednym, czasem dwóch bawełnianych tamponach, zawierają wystarczającą ilość materiału potrzebnego do analizy DNA.

Wilgotny materiał musi wyschnąć. Odnośnie do plam biologicznych na wilgotnych tamponach trzeba mieć na uwadze dwie kwestie. Po pierwsze, jeśli próbka jest umieszczona na przykład w szczelnie zamkniętym szklanym bądź plastikowym pojemniku, ryzyko kontaminacji jest minimalne, ale przepływ powietrza jest utrudniony i grozi degradacją próbki z powodu gnicia. Z drugiej jednak strony, jeśli próbkę umieścimy w przewiewnym pojemniku, np. w papierowej kopercie albo nieszczelnym plastikowym pudełku, próbka nie zostanie zdegradowana, ale może zostać skażona przez sam pojemnik lub inny materiał. Pudełko z utwardzonego plastiku może ponadto elektryzować próbki (szczególnie dotyczy to próbek wyschniętej krwi), co może powodować ich przemieszczanie się. Po wtóre, próbka lub wycięty kawałek materiału nie powinny być wyjmowane w celu wysuszenia ani umieszczane w nowym pojemniku czy ponownie w starym, chyba że zachowa się najwyższą ostrożność i najściślejszą kontrolę. Jest to uzasadnione obawą przed zmieszaniem próbek. Na szczęście obecnie alternatywą są wentylowane pojemniki, w których próbka może wyschnąć bez niebezpieczeństwa przecieku, co zabezpiecza przed degradacją albo zmieszczeniem próbek, a także zapewnia integralność próbki. Dowodu umieszczonego wewnątrz pojemnika nie wolno wyjmować aż do momentu jego badania i analizy w laboratorium.

ZESTAW DO ANALIZY DNA

Zestaw do analizy DNA, dostępny w Szwecji, został opracowany w 1999 roku przez biologów sądowych z SKL (Narodowe Laboratorium Nauk Sądowych), policjantów ze Sztokholmu przeprowadzających oględziny miejsc zdarzeń oraz przez pro-

ducenta sprzętu do oględzin, wytwarzającego podobny zestaw stosowany w Szwecji przy przestępstwach seksualnych [2]. Tak jak w przypadku wspomnianego wyżej zestawu, SKL jest odpowiedzialne za jego udoskonalanie i pomoc techniczną.

Zawartość zestawu do analizy DNA ukazuje rycina 1. Na wewnętrznej stronie kartonowej pokrywki jest wydrukowana prosta instrukcja mówiąca o ujawnianiu i zabezpieczaniu śladów, a uwzględniająca różne ich rodzaje i różne okoliczności stosowania. Zawiera ona także informację co do dalszego sposobu postępowania z zabezpieczonymi śladami. Zestaw jest przeznaczony do pobierania wilgotnych i suchych próbek śladów krwi, śliny i spermy, jak również włosów oraz małych kawałków kości i tkanek miękkich. Można go również stosować w przypadku tak niedużych przedmiotów, jak niedopałki papierosów i kawałki szkła, jak również wyciętych fragmentów tkanin i tapet (w zestawie znajduje się skalpel). Zawartość jednego zestawu pozwala na zabezpieczenie około 10 plam lub innych obiektów.

Tak jak w większości „gotowych do użycia” zestawów, także i w tym zestawie przedmioty w nim się znajdujące same nie są niczym nadzwyczajnym, jednak w komplecie, opatrzone instrukcją, tworzą nową jakość. Jednak w tym przypadku konstrukcja pojemnika na wilgotne bawełniane tampony jest unikatowa i polega na zastosowaniu dwuwarstwowego, przepuszczającego powietrze opakowania wykonane go z podobnego do papieru materiału, które nie przecieka. Przecieki mogą jednak nastąpić, kiedy naciśnie się nasiąknięty tampon, ale nawet w tych warunkach jest on minimalny. Wewnątrz pojemnika znajdują się dwa cienkie paski metalowe, które umożliwiają bezpieczne zamknięcie opakowania.

DOŚWIADCZENIA Z ZESTAWEM DO ANALIZY DNA I POJEMNIKIEM

Indywidualizacja próbki poprzez zamieszczenie właściwej naklejki ma ogromne znaczenie i obecnie przy używaniu szwedzkiego zestawu do analizy DNA zabezpieczane próbki są o wiele częściej numerowane (numer sprawy i numer próbki) oraz opisywane (np. lokalizacja plamy) niż poprzednio. Dołączone naklejki niewątpliwie zachęcają do ich stosowania osoby ujawniające i zabezpieczające ślady na miejscu zdarzenia w stopniu nieporównywalnie większym, niż gdyby stosować zestawy bez naklejek.

Degradacja próbek z powodu niewłaściwego ich pakowania do zamkniętych, szczelnych pojemników, już w zasadzie się nie zdarza. Przecieki z mokrych lub nasiąkniętych próbek przez papierowe koperty, potencjalne źródło kontaminacji, także należą już do przeszłości, ponieważ pojemnik jest zabezpieczony w normalnych warunkach przed przeciekiem (patrz wyżej).

Także procedury laboratoryjne stały się prostsze i lepsze, jako że większość próbek badanych śladów obecnie znajduje się na bawełnianych tamponach w specjalnych pojemnikach. Poprzednio używane pojemniki okazały się nieprzydatne. Pojemnik jest łatwy w obsłudze, ponieważ może być bez problemu powtórnie zamknięty po testowaniu i pobraniu próbek do analizy DNA, a dzięki wbudowaniu metalowych pasków, pakiet nie otwiera się.

Jedno negatywne, acz nie fundamentalne, doświadczenie dotyczy nieznacznego wzrostu liczby próbek zabezpieczonych za pomocą tamponów, które to próbki powinny być zostać zabezpieczone w inny sposób. Należy zwrócić uwagę, iż nie wszystkie plamy mogą być dowolnie zabezpieczane. Dokonuje się tego za pomocą albo wil-

gotnego, albo suchego tamponu, w zależności od podłoża (patrz wyżej). W tych przypadkach odpowiednie instrukcje dla zabezpieczającego ślady są niezwykle istotne.

Dodatkowo pozytywnym elementem jest fakt, iż zestaw może być łatwo zmieniony w zależności od warunków lub wymagań, wciąż w ramach standaryzacji, a więc w sposób zapewniający wysoki poziom jego jakości. Na przykład jeden z rodzajów zestawu jest przeznaczony do zabezpieczania raczej małych obiektów niż plam. Inny wariant takiego zestawu zawiera tylko pewną liczbę pojemników i ampulek z wodą, a przeznaczony jest do pobierania dużej liczby próbek lub do użytku przez doświadczonego technika kryminalistyki.

UWAGI KOŃCOWE

Istnieją trzy podstawowe czynniki, omówione w niniejszym artykule, które uzasadniają używanie standardowego zestawu do analizy DNA w celu właściwego pobierania i zabezpieczania śladów biologicznych na miejscu zdarzenia.

– Po pierwsze, obecnie używane techniki analizy DNA, które pozwalają na efektywne badanie mikroskopijnych próbek, prowadzą jednocześnie do uzyskania bardzo „mocnych” dowodów biologicznych.

– Po wtóre, systemy zapewnienia jakości, akredytacja i certyfikacja, które ustalają wysokie standardy jakości w laboratoriach, powinny co do swej istoty zostać rozciągnięte także na oględziny miejsca zdarzenia.

– Po trzecie, powstanie krajowych baz danych DNA, które w połączeniu z używanymi technikami DNA objęły także ich wykorzystanie w przypadku popełnienia drobniejszych przestępstw, zmuszają tym samym mniej doświadczonych techników kryminalistycznych do ujawniania i zabezpieczania śladów biologicznych.

W dodatku immanentne zalety „gotowych do użycia” zestawów, takich jak zestaw do analizy DNA, mogą być podsumowane następująco:

– Zestaw oferuje osobie przeprowadzającej oględziny miejsca zdarzenia, niezależnie od jej doświadczenia, bardzo prostą, lecz skuteczną możliwość profesjonalnego zabezpieczenia śladów biologicznych i właściwego z nimi postępowania.

– Dzięki specjalnym pojemnikom, oznaczanie próbek i postępowanie z nimi jest uproszczone, a kompletność próbki – zapewniona.

– Wszystkie ewentualne zmiany i modyfikacje dotyczące przyrządów, procedur i postępowania, docierają do użytkowników zestawu bezzwłocznie.

– „Gotowy do użycia” zestaw, starannie opracowany i zatwierdzony, sprzyja standaryzacji, ponieważ wszyscy jego użytkownicy otrzymują identyczny produkt, pomoc w jego wykorzystaniu oraz niezbędne informacje.

Podziękowanie:

Niniejszy artykuł jest poświęcony pamięci mojego zmarłego kolegi, Stefano Giulianelli.