



SUCCESS RATE OF A FORENSIC TAPE-LIFT METHOD FOR DNA RECOVERY

Johan GUNNARSSON^{1,3}, Helena ERIKSSON¹, Ricky ANSELL^{1,2}

¹ *The Swedish National Laboratory of Forensic Science, Linköping, Sweden*

² *Department of Physics, Chemistry and Biology, Linköping University, Linköping, Sweden*

³ *The Swedish National Police Academy, Solna, Sweden*

Abstract

In forensic biology, trace recovery by lifting traces for DNA typing using adhesive mini-tapes, is an efficient complement to traditional recovery methods such as swabbing or cutting. Here we present real crime case success rates for DNA sampling using mini-tapes based on a large data-set. The major findings are an increase in DNA mixtures compared to using conventional trace recovery techniques such as cutting, but in general with a significantly lower degree of inhibited DNA extracts and a higher proportion of usable DNA results.

Key words

Adhesive tapes; Mini tapes; Forensic DNA analysis; Success rate.

Received 17 January 2010; accepted 8 March 2010

1. Introduction

In order to entrap and lift trace evidence attached to surfaces of evidence material for further forensic investigation, the use of adhesive surfaces such as foils or tapes has become a commonly used recovery approach in a broad range of forensic disciplines. Among the adhesive lifting applications in use today are the recovery of textile fibres, hair, shoeprints, paint traces, fingerprints, gun shot residues, cellular material and DNA [see e.g. 1, 2, 3, 11, 13, 15, 17]. The approaches used are still being developed into even more sophisticated applications [18, 20] and combined approaches using adhesive tapes for more than one forensic purpose have, for instance, been presented for gun shot residues and DNA [3, 15] and DNA analysis after the development of fingerprints [12, 21]. Adhesive tape applied directly to the skin has also been suggested as

an alternative to other more invasive means of reference DNA sampling from individuals [7].

Finding DNA traces on the evidence requires different strategies depending on trace type, the exhibit and case circumstances. While blood stains are often quite easily found upon visual inspection, other stains from e.g. semen, sweat or saliva may not be detected by the naked eye, but rather by their fluorescence using a forensic light source such as a CrimeScope CS-16-400 (SPEX Forensics, Olathe KS, USA). Stain localisation is further complicated by the fact that saliva stains are not always possible to detect by the naked eye or with a forensic light source [4], resulting in a need to combine stain search with pre-testing techniques. Furthermore, DNA traces originating from skin epithelium or other contact traces not detectable by a forensic light source might still be present but overlooked. Moreover, not all stains visualised are of human origin, which is a reason for a substantial level of negative

DNA analysis results. However, DNA is expected to be deposited on specific locations on materials touching the mouth or skin, such as clothing and handled or touched items. Surfaces such as collars and cuffs and the mouth/nose part of a robber's mask are in our experience good sources for finding a wearer's DNA, without an explicit need of locating a distinct stain, fluorescent or not, and thus there is no need to use stain pre-localisation or pre-testing techniques.

Today, three methods for DNA recovery in forensic casework are most commonly encountered. Traditionally, two of them have been used in practice – recovery by swabbing or cutting. Different swabbing techniques are in use, including the double swab technique, which consists in applying a moistened swab over the surface of interest followed by a dry swab to increase the recovery rate [14]. Secondly, cutting methods where a stain or a suspected DNA bearing section of the evidence is excised. The tube size for the initial phase of DNA extraction can vary according to the size of the excised stain (e.g. small volume and high volume samples as described in this study). A more recent approach is the use of adhesive mini-tapes for DNA recovery [3, 7, 21]. These are small thumb-sized adhesive areas (e.g. 1.5 × 1.5 cm) made out of regular two sided tape, with which cells and DNA are lifted. The sample is either analysed for DNA directly, or first examined microscopically for possible cell material or hair roots, which are then selected and excised for further analysis [3, 7]. The use of mini-tape has rapidly become an important complement or alternative to the traditional methods of biological trace recovery. Mini-taping can be performed on a larger surface area instead of on a specific stain and an exact prior localisation of DNA traces is not necessary. By using mini-tapes, less of the exhibit itself and its potential contaminants are brought into the subsequent DNA extraction. As the sensitivity of DNA STR analysis techniques makes it possible to reliably amplify and interpret the result of only a minute amount of DNA sampled from briefly touched materials [see e.g. 8, 9, 10, 19], the mini-tape method may also be the method of choice for selective retrieval of DNA from surfaces where an offender has just briefly touched an item, such as the victim's clothing. This is because a tape-lift is expected to recover surface bound traces only, leaving deeper imprinted DNA, which in such cases might not be of interest and the presence of which could complicate interpretation and negatively influence the evidential value.

Studies on the use of adhesive mini-tapes report a varying success rate for tape-lifts as a DNA recovery method, probably due to the varying purposes of the

studies and the materials examined. For example, Hall and Fairley [3] mention that in more than 150 cases, their mini-tape method reached a success rate of 80%, while Li and Harris [7] demonstrated a success rate varying between 0% to 100% when sampling DNA from different parts of the body.

A preliminary evaluation was performed at SKL, the Swedish National Laboratory of Forensic Science, a few months after introduction of mini-tapes as a standard DNA recovery method. It was found that in 232 mini-tape samples analysed, 78.0% carried quantifiable levels of DNA. The general success rate of all samples was 38.8%, defined as the number of mini-tapes yielding interpretable DNA profiles (unpublished data). To our knowledge, however, no extensive study has been published examining the general effectiveness of a tape-lift method for routine DNA sampling from items normally encountered in forensic evidence retrieval.

Here we evaluate the casework success rate of DNA recovery using mini-tapes. To achieve this we extracted laboratory LIMS data over a period of twenty months, reviewing almost 8,000 analysed samples (Table I). The data covered all examined materials in the database where the evidence material would have allowed for either a mini-tape DNA retrieval or recovery by cutting.

TABLE I. THE DISTRIBUTION NUMBER OF SAMPLES AND MATERIALS INVESTIGATED WITH EACH METHOD

Method	Total samples	Materials	Samples/material
Total	7908	3949	
Mini-tape	3388	1863	1.82
Large volume samples	872	677	1.29
Small volume samples	3648	2146	1.70

Some exhibits were analysed with more than one recovery method, which accounts for the sum of materials for the recovery methods being higher than the total number of materials.

2. Materials and methods

2.1. The mini-tape and stain cut recovery methods

The mini-tapes were manufactured in-house using commercially available double-sided adhesive tape

EW150 (Eurocol Tape AB, Åstorp, Sweden) and sheets of colour laser transparency film 3M CG3720 (3M Visual Systems Division, Austin TX, USA). The adhesive tape was attached to the film and the sheets were cut into conveniently sized strips of roughly 8 by 1.5 centimetres in size with an adhesive area of approximately 1.5 by 1.5 centimetres at one end. Before use, a few random samples from each new batch of strips were tested for DNA contamination.

For DNA recovery, the adhesive end of a mini-tape strip was repeatedly pressed against the material to be examined. The location and size of the area where the mini-tape was used was decided for each item individually by the examiner based on prior experience, knowledge of the history of the material examined and questions of interest for the specific case. After sampling, the adhesive area of the mini-tape was cut in pieces and initially put in three separate microfuge tubes for DNA extraction. During the extraction procedure the sample would be pooled into one final tube.

Stains were detected by ocular inspection of the exhibits or by using a forensic light source CrimeScope CS-16-400 (SPEX Forensics). Stains that were considered of interest were marked with a pen, cut up in pieces and placed in test tubes for DNA extraction. Small volume samples were put in microfuge tubes. Larger volume samples where more than three microfuge tubes would be necessary for extraction were instead put in large (50 ml) tubes. Fluorescent stains were not pre-tested to determine their origin (sweat, saliva etc.) before recovery, except for semen, which was tested for if it was of specific interest for the case.

2.2. DNA extraction and analysis

1 ml of deionized water was added to the microfuge tubes (mini-tapes and small volume samples) and the tubes were incubated at room temperature for 30 minutes. In the case of the large volume samples, water was added in the amount needed to cover the material before incubation. DNA was extracted with Chelex [16] using standard protocols, to a final sample volume of approximately 200 μ l. In the case of the mini-tapes, the three separate tubes were pooled into one tube using Centricon-100 (Millipore, Billerica MA, USA), a product currently taken off the market by the manufacturer. Excised stains were extracted with Chelex using the same protocol except Centricon-100 was only applied when considered necessary, due to the presence of strong inhibitors, but then three washing steps using Centricon-100 were performed on each sample.

The extracted DNA was quantified and the presence of inhibitors was measured using Quantifiler Hu-

man (Applied Biosystems, Foster City CA, USA) real-time PCR. The degree of PCR inhibition was estimated using a locally defined scale based on the relative amplification of the internal control (IPC) of the quantification kit. In short, an inhibition threshold was set based on the Ct values of pure DNA samples. Samples carrying a concentration of more than 0.025 ng/ μ l DNA were then profiled with 28 cycles PCR using AmpF/STR SGM Plus (Applied Biosystems). If the DNA concentration exceeded 45 ng/ μ l, the sample was diluted and re-quantified before STR analysis. Samples carrying less than 0.025 ng/ μ l DNA would in general, as a restrictive routine, not be analysed further in volume crime cases. For serious crime samples, further actions could still be considered.

2.3. Casework data

All data from forensic casework at SKL is stored in a database comprised of a locally acquired case file handling system and LIMS, ForumDNA (Ida Infront, Linköping, Sweden) [5, 6]. The data is transferred on a daily basis to a mirroring MySQL relational database, which allows for general data extraction.

Data sampled from the MySQL database for this study consisted of all samples subjected to DNA analyses using either recovery by mini-tapes or excising the (textile) material by cutting into small volume samples (in 1.5 ml microfuge tubes) or large volume samples (in 50 ml Falcon tubes). The data from non mini-tape samples collected from the MySQL database concerned materials that could be analysed by either of the methods. The data-set was limited to the time period starting from July 11th 2006, when the mini-tape method was introduced for routine analysis, until February 29th, 2008.

All the data in this study is related to results after the first routine analysis of each sample. For a forensic case report, a reporting officer manually reviews all results and can re-evaluate the first outcome or decide on new analyses of the sample. This data is not transferred to the MySQL database and was therefore not taken into account in this study.

For each sample, information concerning the following variables was retrieved from the database: independent variables concerning method of recovery, type of exhibit, and identity of the performing examiner. Dependent variables concerning DNA concentration, occurrence of PCR inhibition, and result type of the STR analysis. Moreover, mixed profile quality was calculated from the data (see below).

The DNA quantification data range was from 0.006 ng/ μ l to 50 ng/ μ l. Concentrations outside this

range were treated separately. PCR inhibition was defined as a binary measure, "Inhibition" or "No inhibition". The STR result type was defined as either "Genotype" (a full or partial set of STR markers, single profile), "Mixed profile" (DNA from two or more individuals) or "No result/Missing" (no alleles reaching locally defined threshold values corresponding to 0.25 ng DNA).

The samples classified as "Mixed profiles", after automated filtering of stutter peaks in Gene Mapper *ID* (v. 3.1) according to default settings in the AmpF/STR Panels v.1 (Applied Biosystems) were further analysed regarding their quality using a computer algorithm developed for this study. According to the rules established for this variable, calculation of the peak height thresholds was based on the laboratory's defined criteria for mixed sample evaluation. In brief, these criteria are based on the rule that for mixture alleles, the threshold values used are the ones normally set for homozygote alleles (i.e. twice the threshold values set for heterozygote alleles). The threshold values for routine analysis are defined as the expected peak heights for a specific STR marker and amplification kit lot, in a reaction with 0.25 ng DNA. The mixed profile quality variable algorithm was programmed using a VBA script in Excel 97 (Microsoft Corp., Redmond WA, USA). The resulting quality variable divided the mixed profiles into two categories: "Not evaluable" and "Evaluable". The category "Not evaluable" consists of results that in routine casework were not further evaluated due to either the presence of DNA from more than two individuals in the sample or no alleles reaching the mixed profile thresholds. The category "Evaluable" contained results that can be used and evaluated further by a reporting officer. For the calculation of mixed profile quality, the stutter peaks were not considered. This means that this variable may not be in absolute concordance with what a forensic examiner may have concluded by a manual examination,

but the variable still gives an easily comparable and objective quality measure of the mixed profiles.

To verify the integrity of the data-set collected for this study, a randomly selected subset of 75 samples, 25 from each type of extraction method, was extracted from the MySQL database. Their variables (method of recovery, kind of exhibit, identity of the performing examiner, DNA concentration, degree of inhibition, single profile or mixture) were manually checked against the LIMS source data. No discrepancies were found during this control.

Statistics were calculated using SPSS for Windows, v. 14.0 (SPSS Inc., Chicago IL, USA).

3. Results and discussion

Because of the differences between recovery by lifting surface bound DNA with mini-tapes and recovery by cutting explicit stains or areas expected to contain DNA, it was believed that the mini-tape method would generate a lower amount of DNA compared to the two methods excising samples for analysis. Our data show that the mini-tape method did retrieve a significantly lower amount of DNA from the material examined as compared both to the large and small volume samples (Table II). Still, this does not seem to pose a problem, as the mini-tape method showed a higher percentage of samples with enough DNA to allow for typing compared to the two excising methods examined. This was not expected, as one important difference between the two methods is that before cutting a stain (believed to contain DNA) it will usually first be localised on the exhibit. No such procedure is necessarily performed before the mini-taping. But evidently, even though the localisation of suspected DNA traces is not confirmed beforehand, the number of amplified profiles is higher when using mini-tapes. A plausible

TABLE II. QUANTIFICATION DATA

Method	Total samples	< 0.006 ng/ l		> 50 ng/ l		Valid samples		Mean concentration [ng/ l]	SD
		<i>n</i>	[%]	<i>n</i>	[%]	<i>n</i>	[%]		
Mini-tape	3388	564	16.6	2	0.1	2822	83.3	0.206	0.879
Large volume samples	872	199	22.8	8	0.9	665	76.3	0.561	2.677
Small volume samples	3648	1175	32.2	33	0.9	2440	66.9	0.854	3.819

Mean concentration and *SD* were calculated on valid samples only (see methods section for description). Mean concentration differences were found to be significant ($F = 38.34$, $p < 0.001$) in ANOVA testing. A post-hoc test using Dunnett's T3 revealed significant differences between mini-tape and both large volume samples ($p < 0.05$) and small volume samples ($p < 0.001$), but not between the two cut methods.

explanation is that stains of non-human origin can emit fluorescence and therefore be sampled as potential DNA traces, as pre-testing is generally not performed.

Another explanation for the better performance of the DNA amplifications is the lower level of inhibitors present in the mini-tape samples (Figure 1). A lower degree of inhibition was expected, as less of the background material is collected when pressing an adhesive tape against the exhibit compared to physically removing pieces from it, and incubating the pieces in water. Also, the mini-tape method has an additional washing step during the DNA extraction process, which possibly leads to a DNA extract with a lower level of inhibitors present. The large tube samples also show more inhibition than the small volume samples, which is expected as they contain larger stains and more of the background material. It has also previously been shown using hydrophilic tapes that the tape itself does not seem to inhibit polymerase activity [7]. Even though this was not an issue that was specifically examined in this study, the obtained results do not contradict the above finding.

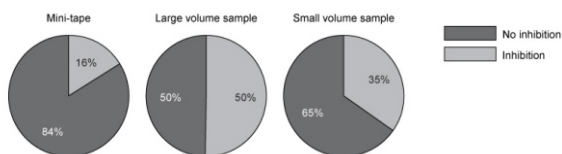


Fig. 1. Degree of inhibition as seen for samples recovered by different methods. The mini-tape recovery method had a much lower degree of inhibitors than did the other two methods. The differences were significant ($\chi^2 = 529.57, p < 0.001$).

Comparing the DNA profiling results for the three methods, the mini-tape method did show a lower degree of single profiles and a higher degree of mixed profiles (Figure 2). The small volume samples in turn showed the lowest degree of mixed profiles, with the large volume samples falling in between. Apparently, surface DNA from real-world samples is commonly a mixture from several donors. This effect was expected since mini-taping will, by covering a larger surface area, entrap most surface-bound DNA present. The impact of this must be taken into account when choosing a method for retrieval, but must also be weighed up against the fact already discussed that a higher percentage of the mini-tapes give evaluable results, i.e. there is a low number of samples lacking a profile. The difference in frequency of occurrence of mixed DNA samples between the methods involving excising of the background material was expected, as removing and extracting DNA from increased surface

areas would increase the risk of entrapping multiple stains as well as recovering more surface bound DNA not originating from the stain in question.

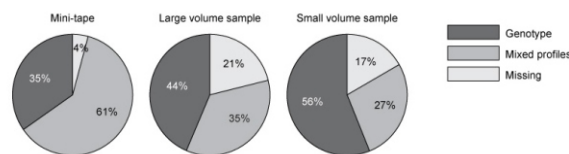


Fig. 2. Typing results showing that DNA mixtures are more prevalent for mini-tape recoveries than for cutting and that less samples are missing data (below laboratory set threshold values). The differences were significant ($\chi^2 = 552.41, p < 0.001$).

The quality of mixed profiles does not seem to vary significantly depending on which of the three methods is used, as indicated by the fact that the percentage of evaluable samples is quite similar (Figure 3). This means that in the case of a suspected mixed sample, none of the methods is preferable to any of the others.

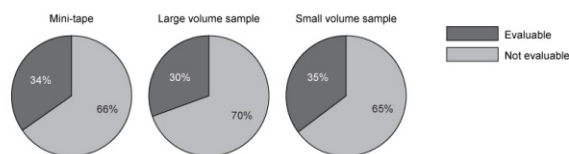


Fig. 3. Mixed profile quality as determined by the results being evaluable or not according to the laboratory guidelines (see text). The differences were not significant ($\chi^2 = 1.35, n.s.$).

The mini-tape method performs very well in comparison with the methods in which stains or areas of interest are excised from the exhibit. This is evident both from the high number of samples yielding typeable quantities of DNA and from the low number of typed samples lacking a profile. Even though all DNA retrieval procedures are largely experience-driven by the exhibit examiner, this is even more so for a method that does not involve stain pre-localisation or presumptive tests. Therefore we would have expected to find at least some individual differences between examiners working with the mini-tape method, but no statistically significant differences could be detected when sorting the data on an individual basis and comparing the outcome. Thus, according to our data-set, DNA retrieval with mini-tape seems to be inter-individual independent (data not shown). One caveat to this conclusion is that this study did not qualitatively examine the case relevance of the outcome of each analysis performed. This means that we do not know,

for example, how often a victim's DNA is found when the perpetrator's DNA was searched for, and *vice versa*.

Obviously, mini-taping surface bound DNA and cutting pre-localised stains from the exhibit in order to recover DNA are distinct approaches. Still, they are partly overlapping as both methods can be applied, for instance, to areas expected to have been in contact with the mouth and nose. A question not addressed in this paper is whether mini-taping could be suitable for recovering DNA from distinct stains that have been detected under fluorescent light or with the naked eye. A lower level of inhibitors would be expected, but would DNA in sufficient amounts for typing be recovered? This and other applications of mini-taping are still to be explored: for instance, what surface area size is optimal for one mini-tape DNA retrieval? At SKL today, the instructions are to lift DNA from a limited surface area, although no definite guidelines exist on how large this should be. The question is open as to whether it may be possible to lower the degree of mixed samples by limiting the tape-lift to smaller areas. Publications on biological trace and DNA recovery are rather scarce and general strategies for optimal biological trace and DNA recovery by alternative approaches such as swabbing, cutting or mini-taping have to our knowledge so far not been presented scientifically.

Nevertheless, the simple handling and robust performance of mini-tapes in recovering evidentiary DNA, together with the recent appearance of commercially available DNA-free mini-tapes such as FSS Scenesafe FAST K545 (The Forensic Science Service Ltd., Birmingham, United Kingdom) and supporting automated extraction processes such as Prepfil chemistry (Applied Biosystems) will lead to even more simplified and efficient future use of mini-tapes in forensic practice. Consequently, further studies and developments of mini-tape applications are expected to follow.

Acknowledgements

Monica Schöld at SKL is acknowledged for sharing unpublished data from early preliminary evaluations of the mini-tape method. Christina Forsberg, Linda Albinsson and Johannes Hedman at SKL are acknowledged for valuable comments.

References

1. Chable J., Croux C., Lennard C., Collection of fiber evidence using water-soluble cellophane tape, *Journal of Forensic Sciences* 1994, 39, 1520–1527.
2. Frei-Sultzer M., Die sicherung van mikrospreuen mit kleband, *Kriminalstatistik* 1951, 10, 190–194.
3. Hall D., Fairley M., A single approach to the recovery of DNA and firearm discharge residue, *Science and Justice* 2004, 44, 15–19.
4. Hedman, J., Gustavsson, K., Ansell, R., Using the new Phadebas® forensic paper to find crime scene saliva stains suitable for DNA analysis, *Forensic Science International: Genetics, Supp. Series* 2008, 1, 430–432.
5. Hedman J., Albinsson L., Ansell C. [et al.], A fast analysis system for forensic DNA reference samples, *Forensic Science International: Genetics* 2008, 2, 184–189.
6. Karlsson C., Holgersson S., ForumDNA, a custom-designed Laboratory Information Management System, *International Congress Series* 2003, 1239, 783–786.
7. Li R., Harris H., Using hydrophilic adhesive tape for collection of evidence for forensic DNA analysis, *Journal of Forensic Sciences* 2003, 48, 1318–1321.
8. van Oorschot R. A. H., Jones M. K., DNA fingerprints from fingerprints, *Nature* 1997, 387, 767.
9. Pang B. C. M., Cheung B. K. K., Double swab technique for collecting touched evidence, *Legal Medicine* 2007, 9, 181–184.
10. Phipps M., Petricevic S., The tendency of individuals to transfer DNA to handheld items, *Forensic Science International* 2007, 168, 162–168.
11. Salter M. T., Cook R., Transfer of fibres to head hair, their persistence and retrieval, *Forensic Science International* 1996, 81, 211–221.
12. Schulz M. M., Reichert W., Archived or directly swabbed latent fingerprints as a DNA source for STR typing, *Forensic Science International* 2002, 127, 128–130.
13. Ståhling S., Karlsson T., A method for collection of gunshot residues from skin and other surfaces, *Journal of Forensic Sciences* 2000, 45, 1299–1302.
14. Sweet D., Lorente M., Lorente J. A. [et al.], An improved method to recover saliva from human skin: The double swab technique, *Journal of Forensic Sciences* 1997, 42, 320–322.
15. Torre C., Gino S., Epidermal cells on stubs used for detection of GSR with SEM-EDX: analysis of DNA polymorphisms, *Journal of Forensic Sciences* 1996, 41, 658–659.
16. Walsh P., Metzger D., Higuchi R., Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material, *BioTechniques* 1991, 10, 506–513.
17. Werner R. B., Paint and tape: Collection and storage of microtraces of paint in adhesive tape, *Journal of Forensic Sciences* 2000, 45, 1312–1315.
18. West M. J., Went M. J., The spectroscopic detection of exogenous material infingerprints after development with powders and recovery with adhesive lifters, *Forensic Science International* 2008, 174, 1–5.
19. Wickenheiser R. A., Trace DNA: A review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities

- of DNA through skin contact, *Journal of Forensic Sciences* 2002, 47, 442–450.
20. Widjaja E., Latent fingerprints analysis using tape-lift, Raman microscopy, and multivariate data analysis methods, *Analyst* 2009, 134, 769–775.
 21. Zamir A., Springer E., Glattstein B., Fingerprints and DNA: STR typing of DNA extracted from adhesive tape after processing for fingerprints, *Journal of Forensic Sciences* 2000, 45, 687–688.

Corresponding author

Ricky Ansell
The Swedish National Laboratory
of Forensic Science, Biology Unit
S 581 94 Linköping
e-mail: ricky.ansell@skl.polisen.se

OCENA WYDAJNOŚCI ODZYSKU DNA METODĄ ZBIERANIA PRÓBEK NA TAŚMĘ ADHEZYJNĄ

1. Wstęp

W wielu różnych dyscyplinach nauk sądowych popularną metodą stosowaną w celu zabezpieczenia śladów znajdujących się na powierzchni dowodu rzeczowego na potrzeby dalszych badań jest stosowanie różnego typu folii i taśm adhezyjnych. Obecnie takie taśmy stosowane są między innymi w celu zabezpieczania włókien, włosów, śladów obuwia, śladów lakierów, odcisków palców, śladów powystrzałowych, materiału komórkowego oraz DNA [zob. np. 1, 2, 3, 11, 13, 15, 17]. Zakres ich użycia ulega ciągłemu rozszerzeniu [18, 20]. Proponowane jest również kompleksowe zastosowanie taśm adhezyjnych uwzględniające zebranie różnych typów śladów, jak na przykład jednoczesne zabezpieczanie śladów powystrzałowych [3, 15] oraz śladów DNA po ujawnianiu śladów daktyloskopijnych [12, 21]. Sugerowano również wykorzystanie taśm adhezyjnych jako metody alternatywnej względem innych, bardziej inwazyjnych metod pobierania próbek porównawczych [7].

Ujawnianie śladów DNA na materiale dowodowym wymaga zastosowania różnych strategii w zależności od rodzaju śladu, typu dowodu rzeczowego oraz specyfiki sprawy. Podczas gdy plamy krwi są stosunkowo łatwe do wykrycia podczas rutynowych oględzin, to inne plamy, jak np. nasienia, potu lub śliny mogą być trudne do ujawnienia podczas standardowych oględzin w świetle widzialnym i konieczne jest zastosowanie przy ich poszukiwaniu promieniowania fluorescencyjnego wytworzonego za pomocą specjalistycznej aparatury, np. urządzenia CrimeScope CS-16-400 (SPEX Forensics, Olathe KS, Stany Zjednoczone). Problem ujawniania śladów dodatkowo komplikuje fakt, że np. plamy śliny nie zawsze możliwe są do wykrycia dzięki standardowym oględzinom lub przy zastosowaniu urządzeń emitujących światło o odpowiedniej długości fali, użytecznej do badań kryminalistycznych [4]. W takich przypadkach konieczne jest łączenie technik poszukiwawczych z metodami pozwalającymi na wstępne testowanie śladów na obecność śliny. Należy również zwrócić uwagę na możliwość pominięcia śladów DNA pochodzących z komórek epitelialnych skóry lub innych śladów dotykowych, które nie są wykrywane dzięki promieniowaniu świetlnemu. Co więcej, nie wszystkie ujawnione ślady pochodzą od człowieka, co stanowi przyczynę znacznej liczby negatywnych wyników analizy DNA. Warto jednak zauważyć, że zgodnie z oczekiwaniami, DNA powinien znajdować się na materiale bezpośrednio stykającym się z ustami lub skórą na odzieży czy przedmiotach trzymanyh lub dotykanych. Z doświadczenia autorów tej pracy wynika, że

powierzchnie takie, jak kołnierzyki i mankiety czy okolice ust bądź nosa na tzw. czapkach kominiarkach stanowią dobre źródło DNA pochodzącego od właściciela. Analiza tych elementów nie powoduje konieczności określenia położenia różnego typu plam w trakcie standardowych oględzin w świetle widzialnym czy też fluorescencyjnym, a wobec tego nie wymaga ujawniania śladów oraz zastosowania metod ich wstępnego testowania.

Obecnie najczęściej stosowane są trzy metody zabezpieczania śladów DNA. Dwie z nich stosowano od dawna w praktyce, tj. zabezpieczanie poprzez pobranie wymazu lub wycinka. Stosowane są różne techniki pobierania wymazu, m.in. metoda podwójnego wymazu polegająca na pobraniu próbki z badanej powierzchni za pomocą wilgotnej pałeczki wymazowej, a następnie suchej pałeczki, co ma zapewnić podniesienie wydajności odzysku DNA [14]. Alternatywnie stosuje się metody pobrania wycinka z badanego dowodu rzeczowego polegające na wycięciu zaplamionego miejsca lub fragmentu przypuszczalnie zawierającego DNA. Rozmiary próbki stosowanej we wstępnej fazie ekstrakcji DNA mogą się różnić ze względu na wielkość plamy (na próbki o małej i dużej objętości, jak opisano w niniejszej pracy). Ostatnio w celu zabezpieczania próbek DNA stosuje się minitaśm adhezyjne [3, 7, 21]. Są to niewielkich rozmiarów (wielkości kciuka) powierzchnie adhezyjne (np. 1,5 × 1,5 cm) będące zwyczajną dwustronną taśmą umożliwiającą zebranie komórek i DNA. Pobrana próbka badana jest pod kątem obecności DNA lub wstępnie analizowana mikroskopowo w celu stwierdzenia, czy występuje w niej materiał komórkowy lub cebulki włosowe, które następnie są pobierane w celu przeprowadzenia dalszej analizy [3, 7]. Wykorzystanie minitaśm adhezyjnych szybko stało się istotnym uzupełnieniem lub alternatywą dla tradycyjnych metod zabezpieczania śladów biologicznych. Przy ich pomocy można zabezpieczać próbki z większej powierzchni, a nie z określonej plamy, nie jest zatem konieczna dokładna lokalizacja śladów DNA. Dzięki zastosowaniu minitaśm adhezyjnych do ekstrakcji DNA trafia mniej materiału, na którym istnieje ślad, a zatem również mniej potencjalnych zanieczyszczeń. Ponieważ wysoka czułość badania markerów typu STR umożliwia wiarygodną amplifikację i interpretację wyników analizy nieznacznych ilości DNA, tzw. śladów dotykowych [np. 8, 9, 10, 19], omawiana metoda może być stosowana do wybiórczego zabezpieczania DNA z powierzchni np. odzieży ofiary. Wynika to z faktu, że takie zabezpieczanie próbek ma w zamyśle umożliwić pozyskanie jedynie śladów znajdujących się na powierzchni materiału, pozostawiając DNA, który znajduje się w głębszych jego warstwach,

bowiem nie jest on istotny dla sprawy i jego obecność może wręcz komplikować interpretację i negatywnie wpłynąć na wartość dowodową śladu.

Wyniki analiz nad wykorzystaniem minitaśm adhezyjnych wskazują, że ich stosowanie w celu zabezpieczenia DNA nie zawsze jest efektywne, co może wynikać ze specyfiki prowadzonych badań oraz z doboru materiałów. Na przykład Hall i Fairley [3] sugerują, że w ponad 150 sprawach stosowana przez nich metoda polegająca na zastosowaniu minitaśm adhezyjnych osiągnęła wskaźnik sukcesu równy 80%, podczas gdy Li i Harris [7] wykazali, że wynosi on od 0 do 100% w zależności od miejsca, z którego zabezpieczane są próbki DNA.

Wstępną ocenę zastosowania minitaśm adhezyjnych przeprowadzono w SKL (Szwedzkim Narodowym Laboratorium Nauk Sądowych) kilka miesięcy po wprowadzeniu tej metody w charakterze standardowej techniki zabezpieczania śladów DNA. Wykazała ona, że z 232 przeanalizowanych próbek pobranych przy zastosowaniu minitaśm adhezyjnych w 78% przypadków uzyskano mierzalne stężenie DNA. Ogólny wskaźnik sukcesu wszystkich próbek osiągnął poziom 38,8%. Został on zdefiniowany jako liczba próbek z profilami DNA nadająca się do interpretacji (dane niepublikowane). Zgodnie z wiedzą autorów tego artykułu, w literaturze przedmiotu nie ma jak dotąd doniesienia na temat szczegółowych badań nad efektywnością zabezpieczania próbek z zastosowaniem minitaśm jako rutynowej metody stosowanej w celu pobierania próbek DNA z przedmiotów badanych w celach sądowych.

W niniejszej pracy poddany został ocenie wskaźnik sukcesu odzysku DNA przy zastosowaniu minitaśm używanych w typowych sprawach sądowych. Przeanalizowano dane zgromadzone w systemie LIMS pochodzące z ponad dwudziestu miesięcy, a dotyczące prawie 8000 zbadanych próbek (tabela I). Przeanalizowane dane dotyczyły całości materiału zabezpieczonego za pomocą minitaśm adhezyjnych lub poprzez wycięcie.

2. Materiały i metody

2.1. Metody zabezpieczania plam za pomocą minitaśm adhezyjnych i poprzez wycięcie

Minitaśmy adhezyjne przygotowano w laboratorium, wykorzystując do tego dostępną w handlu dwustronną taśmę adhezyjną EW150 (Eurocol Tape AB, Åstorp, Szwecja) i arkusze kolorowej przezroczystej folii laserowej 3M CG3720 (3M Visual Systems Division, Austin TX, Stany Zjednoczone). Taśmę adhezyjną przyklejano do folii i takie arkusze cięto na paski o rozmiarach ok. 8 × 1,5 cm i powierzchnii adhezyjnej ok. 1,5 × 1,5 cm. Przed zastosowaniem kilka przypadkowo wybranych próbek z każdej nowej partii pasków przetestowano na okoliczność kon-

taminacji DNA. W celu zabezpieczenia próbki DNA adhezyjną końcówkę paska minitaśmy wielokrotnie przyciskano do badanego materiału. Położenie i rozmiar obszaru, który badano za pomocą minitaśmy adhezyjnej, był określany indywidualnie dla każdego przedmiotu na podstawie posiadanego doświadczenia i wiedzy na temat historii badanego dowodu oraz pytań istotnych dla danego przypadku. Po pobraniu próbki powierzchnię adhezyjną minitaśmy cięto na fragmenty i najpierw umieszczano w trzech oddzielnych mikroprobówkach w celu ekstrakcji DNA. Podczas procedury ekstrakcji DNA próbki gromadzono ostatecznie w jednej probówce. Plamy ujawniano poprzez obserwację dowodów w świetle widzialnym lub z wykorzystaniem aparatu CrimeScope CS-16-400 (SPEX Forensics). Plamy, które sklasyfikowano jako potencjalnie interesujące, zaznaczano za pomocą pisaka, następnie wycinano, cięto na fragmenty i umieszczano w probówkach w celu izolacji DNA. Próbkę o niewielkiej objętości umieszczano w mikropróbówkach. Próbkę o większej objętości, które wymagałyby użycia więcej niż trzech mikroprobówek w celu przeprowadzenia ekstrakcji DNA, umieszczano w dużych probówkach o pojemności 50 ml. Plamy uwidocznione w świetle fluorescencyjnym nie poddawano testom wstępnym umożliwiającym ustalenie ich źródła (np. pot, ślina itp.) przed ich pobraniem, z wyjątkiem plam nasienia, które poddawano testom, jeśli było to znaczące w kontekście konkretnego przypadku.

2.2. Ekstrakcja DNA

Do mikroprobówek (minitaśmy i próbki o małej objętości) dodawano 1 ml dejonizowanej wody, a następnie próbki inkubowano w temperaturze pokojowej przez 30 min. W przypadku dużych próbek dodawano tyle wody, by przykryć materiał przed inkubacją. DNA izolowano z zastosowaniem żywicy Chelex [16] przy ostatecznej objętości próbki wynoszącej około 200 μ l, stosując standardowe procedury.

W przypadku minitaśm materiał z trzech oddzielnych probówek gromadzono w jednej probówce za pomocą kolumnienek Centricon-100 (Millipore, Billerica Stany Zjednoczone). Wycięte plamy poddawano ekstrakcji DNA z użyciem żywicy Chelex, stosując tę samą procedurę z wyjątkiem tego, że kolumnienki Centricon-100 wykorzystywano tylko w wypadku podejrzenia obecności w badanej próbce silnych inhibitorów, a wówczas każdą próbkę trzykrotnie płukano na tych kolumnienkach. Badane próbki poddawano następnie pomiarowi stężenia DNA przy jednoczesnej ocenie obecności inhibitorów za pomocą metody PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem zestawu Quantifiler Human DNA Quantification Kit (Applied Biosystems, Foster City Stany Zjednoczone). Stopień inhibicji reakcji PCR określano przy zastosowaniu skali opartej na względnej amplifikacji wewnętrznej

kontroli (IPC) zestawu do pomiaru stężenia DNA. Mówiąc w skrócie, próg inhibicji jest określony na podstawie wartości C_t czystych próbek DNA. Próbkę o stężeniu przekraczającym 0,025 ng/ l DNA poddawano następnie profilowaniu DNA przy zastosowaniu zestawu AmpF/STR SGM Plus (Applied Biosystems) i 28 cykli reakcji PCR. Jeśli stężenie DNA przekraczało 45 ng/ l, to próbkę rozcieńczano i powtórnie dokonywano pomiaru stężenia DNA przed analizą STR. Próbkę o stężeniu DNA niższym niż 0,025 ng/ l DNA zasadniczo nie były dalej analizowane w przypadku spraw dotyczących zycznych przestępstw. W przypadku próbek w sprawach najpoważniejszych możliwe są jednak dalsze analizy.

2.3. Dane ze spraw sądowych

Wszystkie informacje dotyczące spraw wykonywanych na zlecenie sądu przez SKL są przechowywane w bazie danych złożonej z utworzonego dla własnych potrzeb systemu gromadzenia plików oraz LIMS, ForumDNA (Ida Infront, Linköping, Szwecja) [5, 6]. Dane są każdego dnia przesyłane do zdublowanej relacyjnej bazy danych MySQL umożliwiającej dostęp do podstawowych informacji.

Dane uzyskane z bazy MySQL dla potrzeb niniejszych badań uwzględniają wszystkie próbki przeznaczone do analiz DNA zabezpieczane zarówno metodą z minitaśmami, jak i metodą polegającą na wycinaniu próbek badawczych (materiału), które przeznaczone są następnie do ekstrakcji w małej objętości (w 1,5 ml mikroprobówkach) lub w dużej objętości (w 50 ml probówkach Falkona). Dane wyodrębnione z bazy danych MySQL, które nie pochodziły z analizy próbek zbieranych na minitaśmy, dotyczyły próbek, które mogły być badane jedną z powyższych metod. Analizowane dane zawężono do okresu od 11 lipca 2006 roku (kiedy wprowadzono metodę z minitaśmami do rutynowej analizy w laboratorium) do 29 lutego 2008 roku. Wszystkie informacje prezentowane w niniejszej pracy odnoszą się do wyników uzyskanych na podstawie pierwszego standardowego badania każdej z próbek. Dla potrzeb ekspertyzy biegły wydający opinię analizuje wszystkie wyniki i może zdecydować o powtórnym dokonaniu tej czynności lub o powtórnym badaniu próbki. Tego typu dane nie są umieszczane w bazie MySQL i dlatego nie zostały wzięte pod uwagę w badaniach prowadzonych dla potrzeb niniejszej pracy. Dla każdej próbki z bazy danych przypisano informacje dotyczące następujących zmiennych: metody zabezpieczenia próbek, rodzaju dowodu rzeczowego, osoby prowadzącej badania oraz zmienne zależne dotyczące stężenia DNA, ewentualnej inhibicji PCR i wyniku analizy STR. Ponadto na podstawie danych obliczano jakość mieszanego profilu DNA (patrz poniżej). Stężenia DNA zawierały się w zakresie od 0,006 ng/ l do 50 ng/ l. Stężenia niemieszczące się w powyższym zakresie analizowano

oddzielnie. Inhibicja PCR była definiowana w sposób binarny, tj. „inhibicja” lub „brak inhibicji”. Wynik analizy STR definiowano jako „genotyp” rozumiany jako pełny lub częściowy zestaw układów DNA, „profil pojedynczy”, „profil mieszany” rozumiany jako mieszanina DNA pochodzącego od dwóch lub większej liczby osób lub „brak wyniku” rozumiany jako brak alleli, które osiągnęłyby ustaloną wartość progową odpowiadającą 0,25 ng DNA. Próbkę sklasyfikowaną jako „profil mieszany”, po przeprowadzeniu automatycznego filtrowania pod kątem pików typu *stutter* w programie GeneMapper ID (v. 3.1) i przy zachowaniu domyślnych parametrów w AmpF/STR Panels v. 1 (Applied Biosystems), analizowano dalej bez względu na ich jakość z zastosowaniem algorytmu komputerowego opracowanego dla potrzeb niniejszych badań. Zasady, które ustanowiono dla tej zmiennej, uwzględniają obliczanie progowych wartości wysokości pików zgodne z kryteriami ustalonymi przez laboratorium dla oceny mieszanego profilu DNA. W skrócie, kryteria te polegają na tym, że dla alleli w mieszaninie DNA stosowane wartości progowe są zgodne z tymi, które standardowo odnoszą się do alleli homozygotycznych, tj. równe są dwukrotnej wartości progowej ustalonej dla alleli heterozygotycznych. Wartości progowe w przypadku rutynowej analizy definiowane są jako oczekiwane wysokości pików dla poszczególnych markerów typu STR i serii zestawu do amplifikacji w reakcji z 0,25 ng DNA. Algorytm komputerowy dla zmiennej – jakość mieszanego profilu – przygotowano w języku VBA w programie Excel 97 (Microsoft Corp., Redmond WA, Stany Zjednoczone). Uzyskiwany w rezultacie współczynnik jakości dzielił mieszane profile na dwie kategorie: „nienadające się do oceny” i „nadające się do oceny”. Kategoria „nienadające się do oceny” zawierała wyniki, które w standardowych badaniach nie podlegały dalszej analizie w związku z tym, że zawierały DNA od więcej niż dwóch osób lub nie zawierały alleli przekraczających wysokości progowe ustalone dla mieszanego profilu DNA. Kategoria „nadające się do oceny” zawierała wyniki, które biegły może poddać ocenie. Prowadząc analizę jakości mieszanego profilu DNA, nie brano pod uwagę pików typu *stutter*. Oznacza to, że współczynnik ten nie musi pozostawać całkowicie w zgodzie z wnioskiem wyciągniętym przez biegłego na podstawie przeprowadzonej przez niego analizy, ale daje mimo to łatwo porównywalny i obiektywny parametr jakości dla mieszanego profilu DNA. W celu zweryfikowania spójności zestawu danych wykorzystanych dla potrzeb niniejszych badań, z bazy danych MySQL wyodrębniono 75 przypadkowych próbek (po 25 dla każdej stosowanej metody ekstrakcji DNA). Poszczególne zmienne (metodę zabezpieczenia próbek, rodzaj dowodu rzeczowego, identyfikator osoby prowadzącej badania, stężenie DNA, stopień inhibicji, obecność pojedynczego profilu lub mieszaniny) sprawdzono manualnie i porównano do danych z bazy LIMS.

Nie stwierdzono żadnych niezgodności po przeprowadzeniu powyższej analizy kontrolnej. Analizy statystycznej dokonano z zastosowaniem programu SPSS for Windows, wersja 14.0 (SPSS Inc., Chicago IL, Stany Zjednoczone).

3. Wyniki i dyskusja

Ze względu na różnice pomiędzy zabezpieczaniem próbek DNA z badanych powierzchni za pomocą minitaśm adhezyjnych w porównaniu do ich zabezpieczania poprzez wycięcie widocznych plam lub powierzchni, na których spodziewana była obecność DNA, uważa się, że z próbek zabezpieczanych metodą polegającą na zastosowaniu minitaśm powinno uzyskiwać się mniejszą ilość DNA niż z obu metod opierających się na wycinaniu próbek badawczych. Z danych uzyskanych przez autorów wynika, że metoda polegająca na zastosowaniu minitaśm w istocie umożliwia uzyskiwanie znacząco mniejszej ilości DNA z badanego materiału w porównaniu do wycinania próbek o małej, ale też i dużej objętości (tabela II). Wydaje się jednak, że nie stanowi to problemu, gdyż zastosowanie metody z minitaśmami wykazało wyższy odsetek próbek z wystarczającą ilością DNA do przeprowadzenia analizy genetycznej w porównaniu do dwóch zastosowanych metod polegających na wycinaniu próbek. Taki wynik należy uznać za niespodziewany, ponieważ jedyną istotną różnicą pomiędzy dwoma typami metod jest to, że przed wycięciem fragmentu materiału zawierającego plamę (która zgodnie z oczekiwaniami powinna zawierać DNA) zazwyczaj jest ona lokalizowana na dowodzie rzeczowym. Ten etap nie jest konieczny przed zabezpieczaniem próbek za pomocą minitaśm adhezyjnych. Bez wątplenia jednak, nawet jeśli ślady przypuszczalnie zawierające DNA nie zostały uprzednio zlokalizowane, to liczba pozytywnych amplifikacji umożliwiających uzyskanie profilu genetycznego jest wyższa w przypadku zastosowania minitaśm. Da się to wyjaśnić, zakładając, że emisja fluorescencji może pochodzić od plam, których źródłem nie jest człowiek, a które zabezpiecza się do dalszej analizy DNA, gdyż próbki takie zazwyczaj nie są poddawane testom wstępnym. Innym wyjaśnieniem wyższej liczby pozytywnych amplifikacji jest niższy poziom inhibitorów obecnych w próbkach zabezpieczanych za pomocą minitaśm (rycina 1). Podczas prowadzonych badań oczekiwano niższego poziomu inhibicji, ponieważ sposób pobierania próbek na taśmę adhezyjną wiąże się z pobieraniem mniejszej ilości materiału w porównaniu z wycinaniem jego fragmentów i następnie ich inkubacji w wodzie. Co istotne, metoda zabezpieczania próbek na minitaśmy adhezyjne posiada dodatkowy etap płukania podczas procedury ekstrakcji DNA, co prawdopodobnie prowadzi do zmniejszenia poziomu inhibitorów w badanych ekstraktach DNA. Zgodnie z oczekiwaniami, w prób-

kach o dużej objętości zawierających większe plamy i więcej materiału, na który naniesiony jest ślad, występuje wyższy poziom inhibicji niż w próbkach o małej objętości. Jak wykazano wcześniej, badając taśmy hydrofilne, wydaje się, że sama taśma nie jest źródłem inhibicji polimerazy DNA [7]. Mimo że nie stanowiło to bezpośrednio przedmiotu niniejszych badań, uzyskane wyniki nie pozostają w sprzeczności z powyższym wnioskiem.

Porównując wyniki profilowania DNA uzyskane dla trzech metod izolacji DNA, należy stwierdzić, że zastosowanie metody z minitaśmami daje w efekcie najmniej pojedynczych profili DNA i najwięcej mieszanych profili DNA (rycina 2). Dla próbek o małej objętości stwierdzono najniższy odsetek mieszanych profili DNA, a średni wynik uzyskano dla próbek o dużej objętości. Nie ulega wątpliwości, że DNA zabezpieczony z powierzchni dowodów rzeczowych często stanowi mieszaninę DNA kilku osób. Taki rezultat nie jest zaskoczeniem, gdyż zabezpieczanie próbek na minitaśmę wiąże się z pobraniem DNA z badanej powierzchni, która przy tym sposobie pobierania jest większa. Znaczenie tej obserwacji musi być uwzględnione przy wyborze metody zabezpieczania próbki, ale również poddane ocenie w świetle tego, co dyskutowano wcześniej, a mianowicie, że zastosowanie minitaśm daje ogólnie większy odsetek wyników nadających się do interpretacji w sensie niewielkiej liczby próbek, których amplifikacja kończy się wynikiem negatywnym. Różnica w częstości występowania mieszanych profili DNA pomiędzy dwiema metodami polegającymi na wycinaniu materiału badawczego nie stanowi zaskoczenia, gdyż zwiększanie powierzchni próbki, która następnie poddawana jest ekstrakcji DNA, podnosi ryzyko zabezpieczania nie jednej, ale większej liczby plam. Zwiększa się również ryzyko pobrania dodatkowego DNA znajdującego się na powierzchni materiału, który nie pochodzi z zaplamienia będącego przedmiotem badania.

Wydaje się, że nie ma znaczącej różnicy w jakości mieszanych profili DNA, które uzyskiwane są z próbek zabezpieczanych trzema metodami, na co wskazuje podobny odsetek próbek, których jakość umożliwia przeprowadzenie analizy (rycina 3). Oznacza to, że w przypadku podejrzenia obecności mieszaniny DNA w próbce nie ma powodu, żeby preferować którąś z trzech analizowanych metod jej zabezpieczania.

Metoda zabezpieczania próbek na minitaśmy adhezyjne wypada bardzo dobrze w porównaniu z metodami polegającymi na wycinaniu próbek badawczych z badanych przedmiotów. Dowodem na to jest zarówno wysoka liczba próbek zawierających stężenia DNA umożliwiające ich analizę, jak również niewielka liczba próbek, których analiza genetyczna kończy się wynikiem negatywnym. Wprawdzie wszystkie procedury zabezpieczania DNA w dużej mierze są podatne na doświadczenie biegłego prowadzącego oględziny dowodu rzeczowego, ale jest to szczególnie istotne w przypadku stosowania metody, która

nie uwzględnia lokalizacji zaplamienia lub przeprowadzania testów wstępnych; w związku z tym oczekiwano, że zaistnieją zauważalne różnice pomiędzy próbkami zabezpieczanymi przez poszczególnych biegłych stosujących metodę minitaśm adhezyjnych. Przeprowadzona analiza nie ujawniła jednak statystycznie istotnych różnic, kiedy dane przyporządkowano osobom prowadzącym badanie i uzyskanym rezultatom. Z uzyskanych przez autorów danych wynika zatem, że zabezpieczanie próbek DNA na minitaśmy adhezyjne jest niezależne od operatora (dane nieprezentowane). Jedyne zastrzeżenie do powyższego wniosku może wynikać z tego, że przeprowadzone badania nie uwzględniały jakościowej analizy znaczenia uzyskanego wyniku każdej z przeprowadzonych analiz. Oznacza to, że autorzy nie posiadają informacji mówiącej na przykład o tym, jak często oznaczano DNA ofiary, poszukując DNA napastnika i *vice versa*.

Bez wątplenia metoda zabezpieczania DNA na minitaśmy adhezyjne i metoda wycinania wykrytych plam z dowodu rzeczowego w celu pozyskania DNA to dwie różne techniki. Mimo to ich zastosowanie częściowo pokrywa się, gdyż obie można zastosować na przykład w celu zabezpieczania próbek z powierzchni o przypuszczalnym kontakcie z ustami i nosem. Nie był przedmiotem niniejszej pracy problem, czy metoda zastosowania minitaśm adhezyjnych mogłaby być użyteczna w celu zabezpieczania DNA z różnych zaplamień ujawnionych w świetle widzialnym lub fluorescencyjnym. Należałoby zatem oczekiwać, że zastosowanie tej metody ograniczy inhibicję w badanej próbce; pozostaje jednak pytanie, czy umożliwi ona zabezpieczenie wystarczającej ilości DNA do przeprowadzenia analizy genetycznej? Ten problem, jak i różne inne zastosowania metody zabezpieczania próbek na minitaśmy adhezyjne, będą przedmiotem dalszych analiz. Istotnym zagadnieniem wydaje się na przykład rozmiar powierzchni, który jest optymalny do zabezpieczania próbek DNA za pomocą minitaśm adhezyjnych. Instrukcje obowiązujące obecnie w SKL sugerują ograniczanie powierzchni, z której pobierane są próbki DNA, ale nie precyzują jednoznacznie jej rozmiarów. Otwarte pozostaje pytanie, czy ograniczenie powierzchni, z której pobierane są próbki DNA na minitaśmy adhezyjne, umożliwi zmniejszenie liczby mieszanin DNA.

Doniesienia zawarte w literaturze na temat zabezpieczania śladów biologicznych i próbek DNA należą do rzadkości, a ogólna strategia mająca na celu zoptymalizowanie zabezpieczania śladów biologicznych i próbek DNA za pomocą różnych technik alternatywnych jak wymazy, wycinanie lub zastosowanie minitaśm adhezyjnych, zgodnie z wiedzą autorów, nie doczekała się jak dotąd naukowej prezentacji. Pomimo tego prosta w stosowaniu i wydajna metoda zabezpieczania dowodowego DNA na minitaśmy adhezyjne, a dodatkowo niedawne pojawienie się w sprzedaży wolnych od DNA minitaśm, jak np. FSS Scenesafe FAST K545 (The Forensic Science Service

Ltd., Birmingham, Wielka Brytania) oraz użytecznych automatycznych metod ekstrakcji DNA (np. Prepfiler, Applied Biosystems) z pewnością umożliwi w przyszłości jeszcze łatwiejsze i wydajne zastosowanie minitaśm adhezyjnych w praktyce laboratoriów sądowych. Należy więc oczekiwać rozwoju badań polegających na zastosowaniu minitaśm adhezyjnych.

Podziękowania

Wyrażamy podziękowania dla Moniki Schöld z SKL za udostępnienie niepublikowanych danych na temat wstępnej oceny wydajności metody zastosowania taśm adhezyjnych. Dziękujemy również Christinie Forsberg, Lindzie Albinsson oraz Johannesowi Hedmanowi z SKL za cenne uwagi na temat pracy.