

**STANDARDNE OPERATIVNE PROCEDURE
ZA
UZIMANJE UZORAKA KOSTIJU I ZUBA SA
POSMRTNIH OSTATAKA ZA ANALIZU DNK U
ICMP-u**

Distribucija:

Interna

ICMP.SOP.AA.136.2.W.bcs.doc

Sarajevo, 16. februar 2015. godine

I. Princip

Sveobuhvatne informacije o proceduri za uzimanje uzoraka sa skeletnih ostataka, uključujući i određivanje koji će se element uzorkovati, će osigurati da se za DNK analizu odabere optimalni uzorak. Tačna dokumentacija osigurava da se ovaj odabir evidentira i da se osiguraju potrebne informacije u obrascu o primopredaji.

II. Predmet

Ovaj SOP daje pregled procedura za najbolju praksu pri odabiru, dokumentiranju i uzimanju uzoraka (skeletnih i dentalnih) sa posmrtnih ostataka za DNK analizu.

Prikupljanje uzoraka DNK treba da vrši forenzički stručnjak ili forenzički tehničar: fizički antropolog, osteološki tehničar, forenzički patolog, ili druga kvalifikovana i kompetentna osoba. Uzimanje uzoraka će se sprovesti nakon forenzičkog ispitivanja i/ili autopsije.

U situacijama gdje neuobičajene okolnosti unaprijed isključuju pridržavanje ovih standardnih operativnih procedura (SOP), treba se obezbijediti opis u pisanoj formi kojim se objašnjava zašto se nisu mogle slijediti ove procedure, alternativne procedure koje su obavljene i mišljenje na koji način je ovo uticalo na tačnost i pouzdanost rezultirajućih analiza koristeći se *ICMP-ovim standardnim procedurama/Obrazac pravilnika o odstupanju (ICMP.FSD.QMS.120.doc)*. Primjerak ovog opisa se treba priložiti uz uzorke sa dokumentom obrasca o primopredaji.

III. Reference na vezanu dokumentaciju

ICMP.SOP.FSD.108.doc – Standardne operativne procedure za prenos uzoraka, tabele podnesaka i izvještaji o podudaranju DNK u okviru Odjela za forenzičke nauke
ICMP.FSD.98.doc – Zahtjev za analizu DNK – Obrazac o primopredaji
ICMP.FSD.95.doc – Obrazac za siguran prenos stavki
ICMP.FSD.151.doc – Zahtjev za analizu DNK za potencijalne identifikacije
ICMP.FSD.465.doc – Zahtjev za analizu DNK - Dodatni i rezervni uzorci
ICMP.FSD.QMS.120.doc – SOP/Obrazac pravilnika o odstupanju

IV. Uzorak

Uzimanje uzoraka za DNK analizu može uključivati dvije vrste tvrdog tkiva, kosti i zube (primarni uzorci). Rezervni DNK uzorci (sekundarni i tercijarni uzorci) se mogu prikupiti, u zavisnosti od raspoloživih posmrtnih ostataka i očuvanosti ili stanja kostiju i zuba. Uzorci se prikupljaju u okviru slučaja posmrtnih ostataka. Slučaj posmrtnih ostataka može varirati od jedne kosti ili dijela kosti sve do kompletnog tijela. Pojedinačni slučaj se također može sastojati od izmiješanih posmrtnih ostataka više osoba.

V. Reagensi i pribor

Potrebni reagensi uključuju:

- Rastvor vode sa 10%-tnim komercijalnim izbjeljivačem – da bi se mogle očistiti i sterilizovati oštrice pile, te time spriječila kontaminacija među uzorcima;

- Apsolutni etanol – pomoć pri sušenju uzoraka;
- 70% etanol za pranje – da bi se mogle očistiti oštrice pile, te spriječilo hrđanje.

Potrebni pribor uključuje:

- Bočica za čuvanje/kese za uzorke (npr., ICMP-ove koverta za pakovanje koštanih uzoraka) – da bi se mogli držati i transportovati uzorci;
- “Ljepljiva” traka ili traka za dokaze – za zatvaranje bočica i vreća s uzorcima;
- Neizbrisivi marker i/ili olovke – za zatvaranje bočica i vreća s uzorcima;
- Nepropusni spremnik – da bi se mogli držati i transportovati svi prikupljeni uzorci;
- Vodootporne naljepnice ili metalne pločice (npr. “Aluma-Boss” metalne pločice) – za obeležavanje koštanih uzoraka;
- Papirni ubrusi ili Kim maramice – da bi se, između rada sa različitim uzorcima mogle očistiti površine na kojima se radi, te oprema sa kojom se radi.

Lična zaštitna oprema uključuje:

- Adekvatne zaštitne rukavice – da bi se spriječila povreda od oštrica, reagenasa i ostale opreme;
- Maske – da bi se moglo zaštititi od udisanja čestica;
- Zaštitne naočale – da bi se zaštitilo od prskanja čestica i reagenasa.

Oprema uključuje:

- Sto i stega ili kliješta – za osiguranje stabilnog sječenja uzoraka;
- Sistem za izvlačenje prašine unutar komore – za odstranjivanje čestica;
- Električna pila za autopsiju – za brzo i efikasno sječenje uzoraka
- Ručna pila – kao rezervno sredstvo za sječenje;
- Stomatološka kliješta – da bi se mogli vaditi zubi;
- Digitalna kamera ili fotografska kamera – za fotografisanje uzoraka;
- Fotografske mjerne skale – za korištenje pri fotografisanju.

VI. Osiguranje kvaliteta

Sva oprema mora biti valjano očišćena prije uzimanja uzoraka. Kao minimum, oštrice pile za autopsiju se moraju isprati sa 10%-tnim rastvorom komercijalnog izbjeljivača prije uzimanja svakog uzorka. Preporučuje se da se oštrice pile isperu sa 70% etanolom, ako je dostupan, da bi se spriječilo hrđanje.

Ukoliko je uzorak vlažan može biti korisno da se ispere sa 95%-tnim ili apsolutnim etanolom i da se ostavi da se osuši na zraku, da bi se potakla dehidracija. Važno je da se uzorak u potpunosti osuši prije pakiranja. Prozračno (npr. papirno) pakiranje se treba koristiti gdje je to praktički izvodljivo.

Kada je uzorak prikupljen, stavlja se u odgovarajuću bočicu/kesu za uzorke/spremnik/kovertu, koji su označeni na odgovarajući način. Vlažni uzorci se nikad ne trebaju stavljati u plastične kese za uzorke, jer mogu podstaknuti razvoj plijesni i ras bakterija. Vlažne uzorke treba ostaviti da se osuše, ili staviti u odgovarajuću bočicu/kesicu za uzorke.

NIJE dozvoljeno staviti više od jednog uzorka košti ili zuba u istu kesicu/spremnik, ili dodijeliti više nego jednom uzorku isti broj uzorka.

Tokom transporta i skladištenja uzoraka izbjeći izlaganje uzoraka uvjetima povišene toplote ili vlažnosti, u onoj mjeri u kojoj je to praktično moguće.

Uzimanje uzoraka za DNK analizu je skupa i dugotrajna procedura. Kako je to opisano u daljem tekstu, iz svakog slučaja se trebaju uzeti optimalni uzorci kako bi se osigurala najveća šansa za uspješnost određivanja DNK. Ne smiju se uzimati uzorci koji su manje od optimalnih radi ekspeditivnosti uzorkovanja; ako se ipak uzmu, razlozi moraju biti opravdani i dokumentovani (koristeći se *ICMP-evim standardnim procedurama/Obrazac pravilnika o odsupanju (ICMP.FSD.QMS.120.doc)*).

NAPOMENA: ICMP zadržava pravo da odbije izvršiti analizu DNK ukoliko uzorci nisu odgovarajući ili ako nisu uzeti u skladu sa prioritetima i praksama navedenim u ovim standardnim operativnim procedurama.

VII. Sigurnost

Tretirati sve biološke uzorke kao potencijalno zarazne. Rukavice, zaštitne naočale i maska se trebaju nositi u svakom trenutku prilikom rezanja ili ekstrakcije uzoraka. Rukavice i maska također smanjuju rizik kontaminacije uzorka od strane osobe koja vrši uzorkovanje. Rukavice trebaju adekvatno zaštititi od mogućih povreda pri sječenju.

Pila za autopsiju može uzrokovati ozbiljne povrede. Mora se primijeniti krajnji oprez kada se rukuje ovom spravom. Trebaju se slijediti pravila sadržana u instrukciji o rukovanju koja daje proizvođač, kao i najbolja praksa za sigurnu upotrebu električne opreme i oštarih instrumenata.

Liste s podacima o sigurnosti materijala (MSDS) za izbjeljivač i etanol trebaju biti raspoložive i konsultirane.

Koštana prašina koja se javlja pri sječenju kosti predstavlja potencijalnu opasnost od čestica. Osoblje treba nositi masku kako bi se spriječilo udisanje koštane prašine. Također, rezanje skeletnog materijala se treba provoditi u ventiliranom prostoru. Preporučuje se korištenje zatvorene ventilacijske nape ili komore sa sistemom za usisavanje prašine za rezanje više uzoraka kostiju u zatvorenom prostoru. Treba uraditi procjene rizika i slijediti ih pri korištenju opreme tokom uzorkovanja.

VIII. Procedura

8.1. Evidentiranje uzoraka

1. Standardna praksa je da se napravi fotografija kompletnog skeletnog elementa koji će se uzorkovati sa brojčanom skalom i oznakom slučaja, prethodno samom uzorkovanju. Nakon što je uzorak odrezan ili izvađen, pravi se fotografska ili digitalna slika uključujući uzorkovani element, zajedno sa izvađenim uzorkom, oznakom uzorka i skalom. Ukoliko se ne može napraviti slika, treba se napraviti opis uzorka u pisanoj formi, sa objašnjenjem zašto se nije mogla napraviti slika.
2. Dodatne informacije u vezi sa uzorkom mogu se dobiti od predstavnika institucija koje pomažu ICMP-u u ocjeni uzoraka. To može uključiti pojedinosti lokacije ili konteksta slučaja, svojstva uzoraka, ostale uzorke koji su podneseni iz istog slučaja ili informacije o mogućim identifikacijama. Da bi to mogao učiniti, ICMP koristi sljedeće obrasce da bi standardizovao način pružanja informacija:

ICMP. FSD.98.doc – Zahtjev za analizu DNK- obrazac o primopredaji
ICMP. FSD.151.doc – Zahtjev za analizu DNK za potencijalne identifikacije
ICMP. FSD.ICD.465.doc – Zahtjev za analizu DNK – dodatni i rezervni uzorci
ICMP. FSD.QMS.120.doc – SOP/Obrazac pravilnika o odstupanju

3. Oznaka uzorka se treba dokumentovati i eksplicitno povezati i sa uzorkom i elementom iz kojeg je uzorak uzet. Za uzorke koji se prenose putem ICMP-a, poželjno je koristiti kovertu za koštane uzorke. Dokumentirati odgovarajuće informacije navedene na koverti i slijediti procedure pomenute u donjem tekstu u vezi sa primopredajom. Inače, uzorci se trebaju staviti u odgovarajuće sigurno pakiranje sa oznakom uzorka navedenom na spremniku, zajedno sa oznakom uzorka navedenom na zasebnoj vodootpornoj oznaci i priloženoj sa uzorkom ukoliko postoji bilo kakva šansa da naljepnica na spremniku postane nečitljiva. Označiti preostali skeletni element (dio koji nije uzorkovan) odgovarajućom oznakom. Mogu se koristiti metalne "Aluma-Bos" oznake, ili neki drugi oblik trajnih, neizbrisivih oznaka koje se zadržavaju sa elementom. Ovo je sa ciljem da se osigura da se tačna lokacija sa koje je uzorak prikupljen može provjeriti i verifikovati, koristeći se oznakama koje se s vremenom neće raspasti.
4. Vidjeti odjeljak 3.8. o oznakama uzoraka u daljem tekstu na stranama 7 i 8 i Dodatak 1 za dodatne informacije vezane za oznake uzoraka.

8.2. Odabir uzoraka

1. Odabir DNK uzorka vrši forenzički stručnjak dodijeljen slučaju. Odgovarajući i efikasan odabir uzorka je od ključnog značaja za uspješno testiranje i analizu DNK. Odgovarajući uzorak kosti ili zuba koji će se podnijeti za analizu DNK, ovisi o podesnosti i dostupnosti skeletnih elemenata i stanju ili očuvanju posmrtnih ostataka. Na forenzičkom stručnjaku leži odgovornost da odredi odgovarajući uzorak (uzorke) za prikupljanje. Forenzički stručnjak mora primijeniti svoju najbolju procjenu i ekspertizu u određivanju lokacije za odabir uzoraka, pozivajući se na Dodatak 1 i 3 u donjem tekstu. **NE PREPORUČUJE SE** da se uzorci režu blizu područja traume (ante-mortem, peri-mortem ili post-mortem) ili područjâ moguće degradacije i/ili kontaminacije.
2. "Rezervni" uzorci se mogu uzeti u slučajevima gdje postoji izvjesnost da svi uzorci potiču od iste osobe. DNK analiza rezervnih uzoraka će se vršiti samo ukoliko DNK analiza primarnog uzorka bude neuspješna. Rezervni i primarni uzorci se trebaju spakovati u odvojene kovertu i poslati zajedno. Forenzički stručnjak koji uzima uzorak treba naznačiti na pakiranju i obrascu o primopredaji koji je primarni uzorak koji će se prvi analizirati, a koji se smatra rezervnim uzorkom (uzorcima). Rezervni uzorci moraju imati jedinstvene identifikatore uzorka, različite od ostalih uzoraka u dotičnom slučaju (vidjeti odjeljak 8.3. o oznakama uzoraka). Ovakva praksa se posebno preporučuje kod slučajeva kojim će biti teško pristupiti ili ih uzorkovati, ili su ocjenjeni kao uzorci slabog kvaliteta kosti. Podnošenje rezervnog uzorka (uzoraka) u vrijeme inicijalnog uzorkovanja smanjuje potrebu za ponovnim podnošenjem uzorka. Ovo se ne smije pobrkati sa situacijom gdje je više uzoraka uzeto iz istog slučaja kako bi se riješila potencijalna izmiješanost, kada će se na svim uzorcima vršiti analiza DNK.
3. ICMP može zahtijevati ponovno podnošenje uzoraka u slučajevima gdje su uzorci očigledno lošeg kvaliteta, nedovoljne veličine ili više puta nisu dali dovoljne rezultate DNK analize. Ponovno podnošenje uzoraka ovisi o adekvatnosti i podesnosti preostalog biološkog materijala iz istog slučaja. Forenzički stručnjak od kojeg se tražilo da ponovo podnese uzorak, treba da naglasi na pakovanju i obrascu o primopredaji da je uzorak ponovo podnesen da bi se mogao razlikovati od

primarnog ili rezervnog uzorka (uzoraka). Ponovo podnijeti uzorci moraju imati jedinstvene identifikatore uzoraka, različite od ostalih uzoraka iz dotičnog slučaja (vidjeti odjeljak 8.3. o oznakama uzoraka niže u tekstu).

4. Poželjna težina uzorka kosti je 5 do 15 grama. Isječak dijela od 5cm femura (butne kosti) na sredini koštane cijevi (odrasli muškarac) osigurava adekvatan iznos težine uzorka. Veći uzorci mogu osigurati bolju šansu za uspješnost analiza DNK kod slučajeva gdje su posmrtni ostaci veoma raspadnuti. Međutim, ovisno o okolnostima i očuvanosti, manji uzorci kosti, uključujući i one težine ispod 4 grama (ili u izuzetnim slučajevima manje od 1,0 g), mogu dati rezultate DNK analize i mogu se uzeti ako ne postoji alternativa. Za manje skeletne elemente, kao što su kosti šake ili stopala, forenzički stručnjak može podnijeti cijelu kost; međutim, ukoliko se dodijeljeni slučaj sastoji od samo jednog zuba, skeletnog elementa ili dijela kosti, onda bi koordinacija sa DNK laboratorijom i/ili Odjeljenjem za koordinaciju identifikacija trebala odrediti odgovarajući pristup uzorkovanja i obrade.
5. Rezultati DNK testiranja mogu varirati, te mogu ovisiti o vrsti kosti ili zuba, kao i lokaciji na skeletnom elementu. Određeni skeletni elementi su povoljniji za DNK testiranja. Pogledati Dodatke 1, 2 i 3 za preporučene elemente i uzorkovanje s lokacija na kostima.

8.2.1. Tijelo – jedna osoba

6. Ukoliko je utvrđeno da je telo jedne osobe kompletno ili većim dijelom kompletno, te predstavlja jedan slučaj, onda se preporučuje da forenzički stručnjak odredi jednu lokaciju uzorka. Može se uzeti rezervni uzorak sa druge lokacije ili kosti na tijelu. Sljedeća lista pokazuje najpogodnije elemente za odabir uzoraka (pogledati i Dodatak 1). Zasnovana je na elementima koji će najvjerojatnije dati podesnu DNK. Treba se slijediti prioritetni redoslijed osim ako zubi ili kosti nogu nisu dostupne, ili ako u drugom pogledu nisu optimalne za DNK uzorkovanje:
 - 1) Jedan zdravi zub;
 - 2) Butna kost;
 - 3) Golenjača;
 - 4) Karlica (koja će se uzorkovati ako zubi ili noge nisu dostupni ili ako u drugom pogledu nisu optimalni za DNK uzorkovanje).

8.2.2. Dio tijela – Jedna osoba

7. Ukoliko dio tijela jedne osobe predstavlja jedan slučaj, onda se preporučuje da jednu lokaciju uzorka odredi forenzički stručnjak. Može se uzeti rezervni uzorak sa druge lokacije na kosti ili dijelu tijela (pogledati 8.3. Kodovi uzoraka niže u tekstu). Odabir uzoraka za DNK analizu će varirati u ovisnosti o raspoloživim posmrtnim ostacima. Vidjeti Dodatke 1, 2 i 3 za preporučene elemente i lokacije kostiju, u ovisnosti o raspoloživim skeletnim elementima.

8.2.3. Ruka i šaka – Jedna osoba

8. Trenutne stope uspjeha DNK testiranja kostiju ruke (nadraktična kost-humerus, lakatna kost-ulna i palčana kost-radius) su relativno loše u poređenju sa kostima šake (metakarpalnim (kosti doručja), karpalnim (kosti ručja), proksimalne falange (proksimalni članci)). Uzorkovanje kostiju ruku se ne preporučuje osim ako je dostupnost podesnijih uzoraka ograničena. Ukoliko su skeletni elementi iz šake dostupni i ukoliko su ove kosti šake uvjerljivo povezane sa rukom, onda se preporučuje da uzorkovanje kostiju šake bude prioritet nad uzorkovanjem kostiju ruke.
9. Sljedeća lista pokazuje, po redu prvenstva, odabir uzoraka za cijelu ili djelimičnu ruku sa šakom:

1. Metakarpalna kost (4. metakarpalna kost ima prednost);
2. Karpalna kost (glavičasta kost ima prednost);
3. Nadlaktična kost (humerus).

10. Sljedeća lista pokazuje, po redu prvenstva, odabir uzoraka za kosti ruke:

1. Nadlaktična kost (humerus);
2. Lakatna kost (ulna);
3. Palčana kost (radius).

11. Sljedeća lista pokazuje, po redu prvenstva, odabir uzoraka za šaku:

1. Metakarpalna kost (4. metakarpalna kost ima prednost);
2. Karpalna kost (glavičasta kost ima prednost);
3. Prva proksimalna falanga.

NAPOMENA: Vidjeti Dodatak 1 i 2 za preporučene elemente i lokacije uzorka na kostima po prioritetu.

8.2.4. Izmiješani posmrtni ostaci – Jedna i/ili više osoba

12. Ukoliko se vrši uzimanje uzoraka iz slučaja sa više kostiju i/ili dijelova kostiju nepoznatog broja osoba, onda forenzički stručnjak mora odabrati odgovarajući broj uzoraka i lokacija uzoraka baziranih na procjeni broja diskretnih kompleta posmrtnih ostataka koji se mogu prepoznati. **NE PREPORUČUJE SE** uzorkovati kompletnu kost ili dio kosti koja nije uparena/združena/vezana sa drugim skeletnim elementom. Također se **NE PREPORUČUJE** da se uzorkuju zubi koji su klimavi ili odvojeni od mandibule ili maksile osim ako postoji opravdanje za to. Ako forenzički stručnjak odabere da odstupa od datih preporuka, moraju se dati opravdani razlozi za to, te se to treba i dokumentovati (koristeći se obrascem *ICMP.FSD.QMS.120.doc –SOP/Obrazac pravilnika o odstupanju*).

NAPOMENA: Vidjeti Dodatke 1 i 3 za prioritete lokacija uzimanja preporučenih elementa i uzorka na kostima prema prioritetu.

8.3. Oznake uzoraka

1. Svakom uzorku koji je određen za DNK analizu mora se dodijeliti jedinstvena oznaka. Standardni protokol za označavanje se treba usaglasiti sa imenovanim organom prije nego uzorkovanje počne. Zahtjevi za odgovarajuću oznaku uzorka su opisani u tekstu koji slijedi.
2. Oznaka uzorka mora biti čitljiva i uredno napisana velikim ili štampanim slovima. Radi jasnoće, i kako bi se napravila razlika između znakova i ostalih brojeva ili slova, nula mora biti prekrivena dijagonalnom kosom crtom (npr. \emptyset) a broj sedam mora biti napisan sa crticom preko (npr. 7).
3. Propisno označavanje originalnog skeletnog elementa i samog izvađenog uzorka je od suštinskog značaja u procesu identifikacije DNK. Štaviše, oznake uzorka sadržane u oznaci uzorka pomažu u ukupnim provjerama rezultata DNK testiranja, koje identificiraju obrasce stope uspjeha po skeletnom elementu, što zauzvrat usmjerava proces odabira uzoraka. Osim toga, diferencijacija osnovnih, rezervnih i ponovo podnesenih uzoraka na osnovu pravila označavanja pomaže pri kontroli kvaliteta, koordinaciji uzorkovanja i procesu upravljanja slučajevima.

8.3.1. Određivanje oznake uzorka

- Oznaka uzorka ne treba imati razmake. Oznaka uzorka se sastoji od oznake lokaliteta, broja slučaja, i strane uzorka i elementa. Sljedeći primjer pokazuje redosljed i odgovarajuće znakove za razdvajanje:

THAI-132B-LF

(Oznaka lokaliteta <THAI>, Broj slučaja <132B>, Skeletni element <Lijevi Femur>)

8.3.2. Oznaka lokaliteta

- Ovu oznaku dodijeljuje istražni organ i ona treba biti jedinstvena. Ista može uključivati broj sudskog naloga.

8.3.3. Broj i slovo slučaja

- Ovaj broj dodijeljuje istražni organ ili ovlaštena osoba. Često slučajevi mogu uključivati slovnu oznaku koja opisuje slučaj: npr. B (engl. Body) za Tijelo; BP (engl. Body Part) za Dio tijela; I za Izolovane kosti (eng. Isolated Bones) i GBP (engl. General bone bag) za Univerzalna vreća za kosti. Brojevi i slova slučajeva se obično dodijeljuju tokom operacija iskopavanja ili se određuju u mrtvačnici.

8.3.4. Strana uzorka i oznaka elementa

- Oznake za konkretni zub ili element obično uključuju slovo za stranu tijela: L za lijevu stranu; R za desnu stranu; i U za Neodređena strana (ili strana se nije mogla odrediti). Vidjeti Dodatak 1 za kompletan spisak oznaka uzoraka za zube i kosti.

8.3.5. Broj elementa

- Neki slučajevi mogu imati nekoliko dupliciranih skeletnih elemenata, od kojih svaki može biti uzorkovan. Broj elementa se koristi kako bi se napravila razlika između istih elemenata u izmiješanom skupu. Na primjer, dvije lijeve butne kosti (LF) su razlikovane kao:

THAI-Ø86BP-LF1

THAI-Ø86BP-LF2

8.3.6. Određivanje oznake uzorka za drugi, ponovo podnesen uzorak, uzet sa iste kosti

- Ukoliko prvi (primarni) DNK uzorak nije rezultirao uspješnim ili dovoljnim izolovanjem DNK, onda se može odabrati drugi uzorak sa istog skeletnog elementa, a to je taj koji je ponovo podnesen. Da bi se on razlikovao od osnovnog uzorka, identifikator **-RSB-** treba se dodati na postojeći kod uzorka. Npr. za desnu golenjaču (RT):

THAI-199BP-RT1 → THAI199BP-RT1-**RSB**

- Ako postoji ponovljeno uzorkovanje istih skeletnih elemenata koje je urađeno nakon ponovnog podnošenja uzorka, onda se dodaje numerički identifikator za desnu golenjaču (RT).

THAI-199BP-RT1 RSB → THAI-199BP-RT1-**RSB2**

8.3.7. Određivanje oznake uzorka za uzorak koji je ponovo podnesen (drugi uzorak), uzet sa istog dijela tijela, ali sa različite kosti

11. Slijediti istu proceduru kao za novi uzorak, sa dodatnim identifikatorom **RSB**. Npr. za desnu butnu kost (RF):

THAI-199BP-RF1-**RSB**

8.3.8. Određivanje oznake uzorka za uzorak koji je podnesen kao rezervni uzorak

12. Kod slučajeva gdje su uzorci dodatni onim osnovnim, te podneseni u DNK laboratoriju i NE ZAHTIJEVAJU hitnu obradu kod testiranja DNK, trebaju biti označiti sa REZERVNI. Rezervne uzorke će ICMP zadržati na određeni, dogovoreni vremenski period i obraditi ih samo ako prvi, najpoželjniji uzorak ne rezultira DNK profilom. Uzorci se trebaju navesti samo kao rezerve u slučajevima kada ne postoji mogućnost da potiču od različitih osoba. *Ukoliko postoji sumnja, uzorci trebaju dobiti novi kod.* Primjeri okolnosti gdje se uzimanje rezervnih uzoraka smatra opravdanim uključuje uzimanje uzoraka jednog zuba i butne kosti sa istog, potpuno kompletnog tijela ili ako će mu biti teško pristupiti ubuduće, ili gdje su posmrtni ostaci iz pojedinačnog slučaja veoma raspadnuti, te se očekuje da će izdvajanje DNK biti problematično. Rezervni uzorci trebaju imati identifikator **-RES-** dodat na postojeću oznaku uzorka. Na primjer, za lijevu golenjaču (LT):

THAI-234BP-LT1-**RES**

8.4. Prenos uzoraka u Jedinicu za kosti pri Odjelu za koordinaciju identifikacija (ICD) na DNK analizu

1. Prilikom pripremanja uzoraka za DNK analizu trebaju se slijediti propisane procedure primopredaje navedene u Standardnim operativnim procedurama za *prenos uzoraka, tabele podnesaka i izvještaje o podudaranju DNK u okviru Odjela za forenzičke nauke (FSD) (ICMP.SOP.FSD.108.doc)*.
2. Općenito, ICMP-ove unaprijed pripremljene koverta se trebaju koristiti za pakiranje gdje je to moguće. Bez obzira na vrstu pakiranja uzorka, oznaka uzorka mora biti napisana na pakiranju neizbirisivom tintom. Otvor pakiranja mora biti zapečaćen trakom, potpisan i datiran preko zapečaćenog dijela. Ovo štiti integritet uzorka jer će svaki pokušaj da se naruši sadržaj biti vidljiv.
3. Mogu postojati slučajevi kada osoba koja podnosi uzorke Odjeljenju za koordinaciju identifikacija nije osoba koja je izrezala ili izvadila uzorke. U takvim situacijama, ovo se mora jasno dokumentovati na pratećim papirima i na pakiranju uzorka (gdje je to izvodljivo).
4. Nepoštivanje preporučenih propisanih procedura primopredaje može rezultirati kašnjenjem u obradi uzoraka za DNK analizu.

Dodatak 1: Spisak zuba i skeletnih elemenata sa prioritetnim rangiranjem i sistemom oznaka

Obratite pažnju na to da svaka regija skeleta ima lokacije uzoraka sa višestrukim prioritetima. Prioritet 1 je najpoželjniji, a Prioritet 6 je najmanje poželjan.

Regija	Skeletni/dentalni element	Prioritet	Oznaka uzorka	Lijeva	Desna	Nepoznata strana
GLAVA	Zub-donja vilica	1	MNT			
	Zub-gornja vilica	1	MXT			
	Sljepoočna kost/petrozni dio sljepoočne kosti	1	PT	LPT	RPT	UPT
	Donja vilica	2	MN	LMN	RMN	UMN
	Potiljačna kost	3	OCP			
	Tjemena kost	4	PR	LPR	RPR	UPR
	Lobanja-Drugi dijelovi lobanjske duplje	4	SK			
	Kosti lica	6	FC			

TRUP	Karlica	1	P	LP	RP	UP
	Kralježak-vratni	2	CV			
	Kralježak-grudni	2	TV			
	Kralježak-slabinski	2	LV			
	Lopatnica	3	SC	LSC	RSC	USC
	Rebro	4	RB	LRB	RRB	URB
	Ključna kost	5	CL	LCL	RCL	UCL
	Krstačna kost	6	SAC			
	Grudna kost/drška grudne kosti	6	ST			

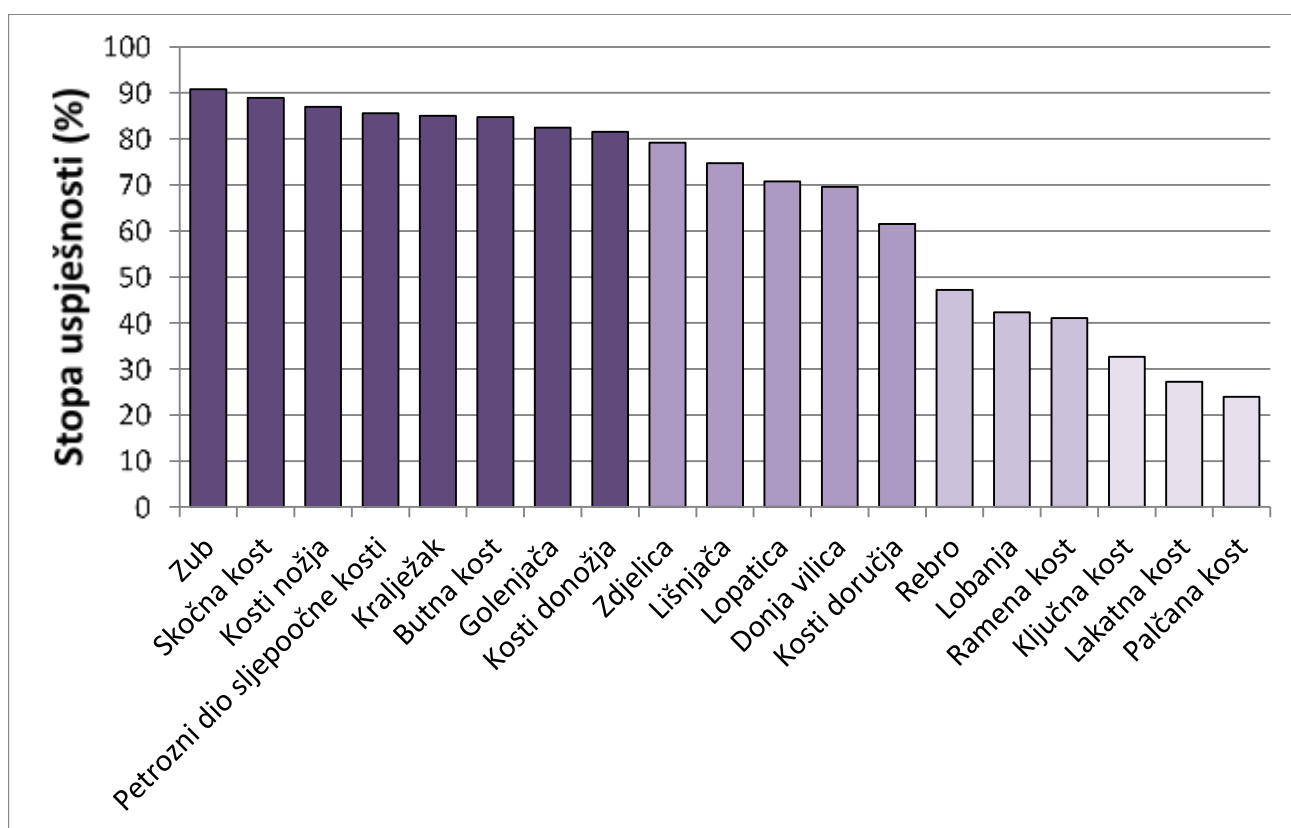
RUKA	Nadlaktična kost	4	H	LH	RH	UH
	Palčana kost (žbica)	5	R	LR	RR	UR
	Lakatna kost	5	U	LU	RU	UU

ŠAKA	Kosti doručja (metakarpalne kosti)	3	MC	LMC	RMC	UMC
	Kosti ručja (karpalne kosti)	4	CR	LCR	RCR	UCR
	Članci (falange)- šaka	4	HPH	LHPH	RHPH	UHPH

NOGA	Butna kost	1	F	LF	RF	UF
	Goljenična kost	1	T	LT	RT	UT
	Lisna kost	2	FB	LFB	RFB	UFB
	Iver	3	PAT	LPAT	RPAT	UPAT

STOPALO	Kosti donožja (metatarzalne kosti)	1	MT	LMT	RMT	UMT
	Gležanjska kost	1	TAL	LTAL	RTAL	UTAL
	Kosti nožja (tarzalne kosti) (druge kosti nožja)	3	TR	LTR	RTR	UTR
	Petna kost	3	CAL	LCAL	RCAL	UCAL
	Članci-stopalo	4	FPH	LFPH	RFPH	UFPH

Dodatak 2: Stopa uspjehnosti kod izdvajanja DNK iz individualnih skeletnih elemenata



Dodatak 3: Opisi uzorkovanja preferiranih zuba i preferiranih lokacija uzorka na kosti

Lokacija uzorka na kosti i odabir određenih zuba za uzorkovanje je zasnovan na različitim faktorima. Svaki skeletni element ima konkretne preporuke i pojedinačno se razmatra.

Općenito, izbjegavati uzorkovanje područja gdje je kost izmijenjene boje, jer ovo može ukazivati na povećanu koncentraciju određenih metala u tlu ili visoku vlažnost u okruženju grobnice koji su možda rezultirali degradacijom DNK kosti.

Izbjegavati određena područja za uzimanje uzoraka koja pokazuju individualne karakteristike koje se mogu iskoristiti u svrhe identifikacije, npr. mandibularni ugao donje vilice ili zuba koji ukazuje na stomatološki zahvat.

Izbjegavati uzorkovanje područja koja ukazuju na traumu, kao što su duž ivica loma, jer ova područja mogu doprinijeti budućim naporima na reasocijaciji (ponovnom sklapanju tijela).

ZUBI

Potrebni su čitavi i dobro očuvani zubi sa kompletno formiranim vrhovima korijenova gdje je to moguće. Međutim, prisustvo kompletno formiranih vrhova korijenova nije apsolutni zahtjev za podnošenje uzorka.

Odaberite zub iz sljedećeg reda:

1. Prvi kutnjak;
2. Drugi kutnjak;
3. Treći kutnjak;
4. Prvi ili drugi pretkutnjak;
5. Očnjak; i
6. Sjekutić.

Ukoliko se nekoliko zuba nalazi unutar dentalnog luka, jedan zdravi zub treba podnijeti za DNK analizu. Evidentirajte brojeve podnešenih zuba. Osigurajte da su sve informacije o zubu zabilježene u okviru procedura standardnog pregleda prije uzorkovanja. Ovo može uključivati procjenu kalcifikacije, izbijanja, ili transparentnosti zuba koja se koristi procjenama starosti u trenutku smrti.

Kada je to moguće, treba izbjegavati zube sa velikim karijesnim oštećenjima, i/ili peri-mortem ili post-mortem frakturama.

Budući da zubi sa zubnim restauracijama imaju povećan rizik frakture krune zuba, što može umanjiti polučenu količinu DNK, ovakvi zubi se ne bi trebali podnositi na uzorkovanje. Uz to, ovakvi zubi mogu biti od suštinskog značaja za radiografsku usporedbu u slučaju da rendgenski snimci načinjeni prije smrti budu dostupni kasnije.

Ukoliko je karakterističan prednji zub odabran za uzorkovanje, kao što je zub koji formira dijastemu ili koji pokazuje kulturološku modifikaciju, prije uzorkovanja mora se napraviti fotografska ili digitalna slika zubnog luka, sa brojčanom skalom i oznakom slučaja.

U slučajevima izmešanih zubnih elemenata, izbjegavati uzorkovanje klimavog zuba ili zubā koji su zamijenjeni u alveolarnim nastavcima. Ovo su općenito zubi sa jednim korijenom i treba ih se smatrati najmanje poželjnim prema redosljedu preferencija kod uzorkovanja zuba.

Ukoliko je kvalitet zuba loš i ne ispunjava gore pomenute kriterije, preporučuje se da dva zuba iz maksile ili mandibule budu podnesene za uzorkovanje. Zub iz maksile i zub iz mandibule se nikad ne trebaju podnositi zajedno kako bi se osiguralo da taj uzorak predstavlja samo jednu osobu.

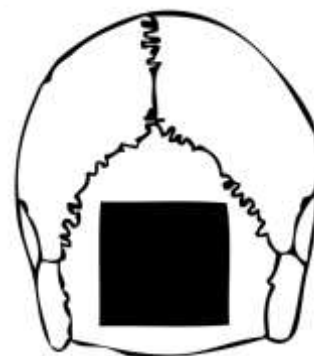
SKELETNI ELEMENTI

Sljedeći odjeljci daju preporuke za prve i druge prioritete za prikupljanje uzoraka sa pojedinačnih skeletnih elemenata. Lokacije drugog prioriteta (označena sivom bojom) se preporučuju u slučaju da preferirani dio skeleta ili skeletnih elemenata (označeni crnom bojom) pokazuju moguće identifikacijske značajke, traumu, ili pokazatelj degradiranog DNK materijala. Forenzički ekspert može odlučiti da odabere element sa lijeve ili desne strane tijela, ovisno o očuvanosti ili dostupnosti skeletnog materijala.

Potiljačna kost

Treba se uzeti relativno veliki uzorak koji uključuje vanjsku okcipitalnu protuberanciju. Izbjegavati rezanje kroz šavove ili frakture lobanje, jer ovo može ugroziti integritet lobanje, a isti se koriste da se potvrde fizičke reasocijacije u slučajevima razdvojenih i/ili izmiješanih posmrtnih ostataka. Ne zaboravite zabilježiti vrijednosti za određivanje spola kod okcipitalne protuberancije prije nego uzmete uzorak.

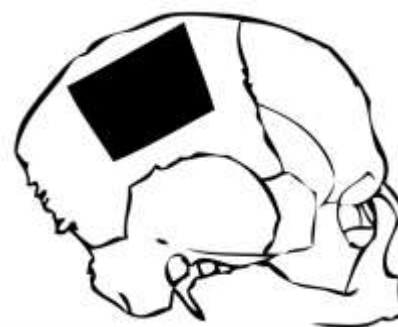
Zahvaljujući relativno velikoj dimenziji uzorka, potiljačna kost se uzorkuje samo jednom.



Tjemena kost

Treba se uzeti relativno veliki uzorak. Izbjegavati rezanje kroz šavove ili frakture lobanje jer ovo može ugroziti integritet lobanje a isti se koriste da se potvrde fizičke reasocijacije u slučajevima razdvojenih i/ili izmiješanih posmrtnih ostataka.

Zahvaljujući relativno velikoj dimenziji uzorka, tjemena kost se uzorkuje samo jednom.



Sljepoočna kost

Rezati endokranijalni aspekt petroznog dijela sljepoočne kosti.

U slučaju lobanje mlađe odrasle osobe sa tankim kostima svodalobanjske duplje, preferira se uzorkovanje petroznog dijela sljepoočne kosti, radije nego uzorkovanje potiljačne ili tjemene kosti.

*Lokacija i relativna veličina uzorka petroznog dijela
(Prikazana je desna sljepoočna kost, perspektiva endokranijuma)*



Tijelo mandibule

Uzorkuje se dio donjeg tijela mandibule ostavljajući alveolarne nastavke netaknutim.

*Lokacija i relativna veličina uzorka tijela mandibule
(Prikazana je desna mandibula)*



Lopatica

Prvi prioritet su akromion i greben lopatice (označeno crnom bojom). Drugi izbor je aksilarni rub lopatice (označeno sivom bojom). Također, mogu se koristiti i glenoidna jama i korakoidni nastavak.

*Lokacija i relativna veličina uzorka lopatice
(Prikazana je desna lopatica)*



Ključna kost

Ključna kost se presiječe i uzorkuje se njena srednja trećina, dok se lopatična i grudna trećina ostavljaju zajedno

*Lokacija i relativna veličina uzorka ključne kosti
(Prikazana je desna ključna kost)*



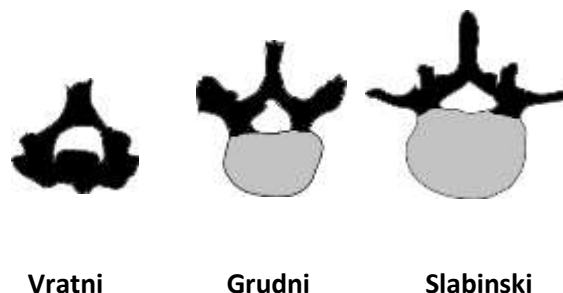
Drška grudne kosti i grudna kost

Mogu se uzorkovati kompletna ili većinom kompletna drška grudne kosti i grudna kost. Odabrati najbolje očuvano/a područje/a sa najkompaktnijom kosti.

Kralješči (vratni, grudni i slabinski)

Transverzalni i spinozni procesi (označeno crnom bojom) predstavljaju prvi prioritet za grudni i slabinske kralješke. Tijelo kralješka (označeno sivom bojom) je drugi prioritet. Ukoliko je moguće, može se podnijeti kompletan vratni kralježak.

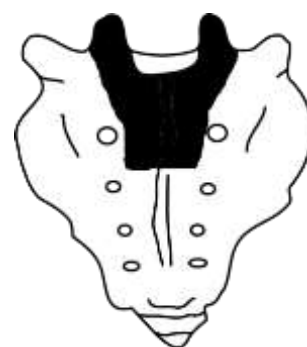
*Lokacija i relativna veličina uzoraka kralježaka
(Prikazan je gornji aspekt)*



Krstačna kost

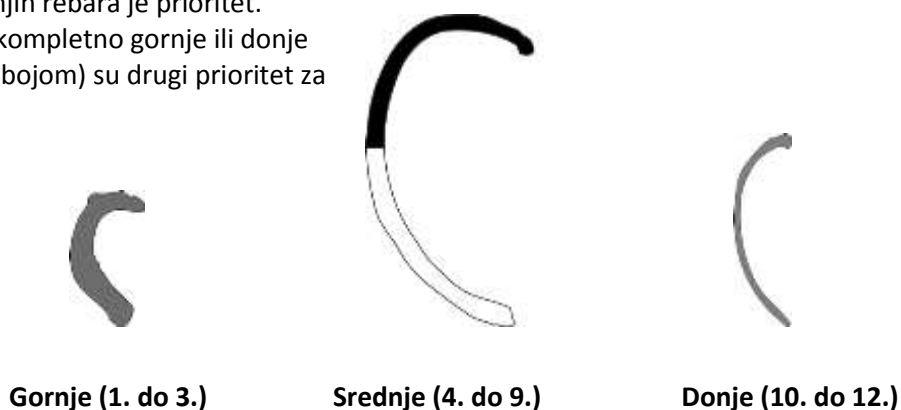
Središnji greben i artikularne površine (označeno crnom bojom) su prioritet.

*Lokacija i relativna veličina uzorka krstačne kosti
(Prikazan je aspekt sa stražnje strane)*



Rebra

Kičmena (vertebralna) polovina (označeno crnom bojom) jednog od srednjih rebara je prioritet. Kompletno ili većinom kompletno gornje ili donje rebro (označeno sivom bojom) su drugi prioritet za odabir uzoraka rebara.



Nadlaktična kost

Prvi prioritet je dio kosti sa distalnog medijalnog dijela koštane cijevi, približno 2cm iznad područja valjka (označeno crnom bojom). Drugi prioritet je dio na ili u blizini proksimalne sredine koštane cijevi (označeno sivom bojom).

*Lokacija i relativna veličina uzorka nadlaktične kosti
(Prikazana je desna nadlaktična kost)*



Lakatna i palčana kost

Prvi prioritet je dio kosti koji se uzima sa proksimalne koštane cijevi duž međukoštanog grebena (označeno crnom bojom). Drugi prioritet je presjek distalnog dijela sredine koštane cijevi (označeno sivom bojom).

*Lokacija i relativna veličina uzoraka palčane i lakatne kosti
(Prikazane su obje kosti desne ruke)*



Kosti šake

Metakarpalne i glavičasta kost su preferirane kosti, kada se uzorkuje kompletna šaka. Međutim, prioriteti će varirati u ovisnosti o dostupnim elementima i očuvanosti.

Članci šake

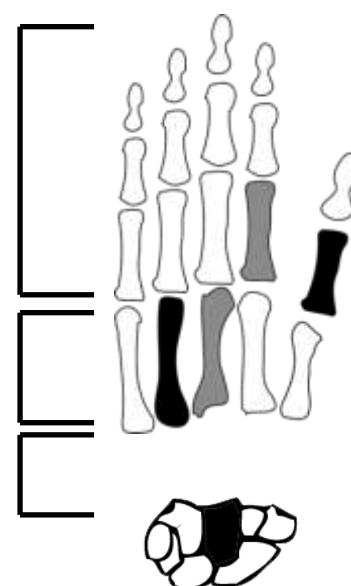
Prvi prioritet je 1. proksimalni članak (označeno crnom bojom). Drugi prioritet je 2. proksimalni članak (označeno sivom bojom) ili drugi veliki članak šake.

Metakarpalne kosti

Prvi prioritet je 4. metakarpalna kost (označeno crnom bojom). Drugi prioritet je 3. metakarpalna kost (označeno sivom bojom).

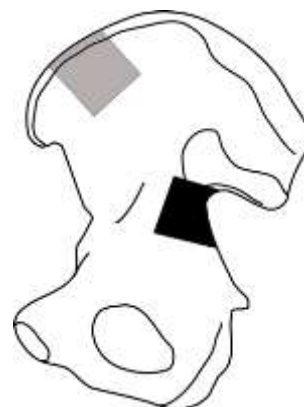
Karpalne kosti

Prvi prioritet je kompletna glavičasta kost (označeno crnom bojom). Sve dostupne veće karpalne kosti su drugi prioritet.



Karlica/bedrenjača

Prvi prioritet je pravougaoni dio koji se reže sa velikog sjedalnog ureza (označeno crnom bojom). Gornja granica reza je ispod predaurikularne površine i u kost prema lučnoj liniji. Donja granica je približno središnja tačka sjedalnog ureza kako bi se izbjeglo oštećivanje zglobne čašice (acetabulum). Ne zaboravite zabilježiti vrijednosti za određivanje spola kod sjedalnog ureza prije uzimanja uzorka. Drugi prioritet je pravougaoni dio sa karličnog grebena blizu prednjeg područja (označeno sivom bojom).



Kada se reže uzorak bedrenjače, koristite lepezastu oštricu.

*Lokacija i relativna veličina uzorka bedrenjače
(Prikazana je desna karlična kost)*

Butna kost

Prvi prioritet je dio kosti ("prozorasti isječak") koji se uzima sa proksimalne prednje koštane cijevi ispod područja male kvрге (označeno crnom bojom). Drugi prioritet je dio kosti ("prozorasti isječak") koji se uzima sa distalnog prednjeg dijela koštane cijevi (označeno sivom bojom).



*Lokacija i relativna veličina uzorka butne kosti
(Prikazana je desna butna kost)*

Čašica koljena (Iver)

Može se uzorkovati kompletna ili većinom kompletna čašica koljena.

Goljениčna kost

Prvi prioritet je dio kosti ("prozorasti isječak") koji se uzima sa prednjeg proksimalnog dela koštane cijevi (označeno crnom bojom). Drugi prioritet je dio kosti ("prozorasti isječak") koji se uzima sa prednjeg distalnog dijela koštane cijevi (označeno sivom bojom).



*Lokacija i relativna veličina uzorka goljениčne kosti
(Prikazana je desna goljениčna kost)*

Lisna kost

Uzima se dio kosti sa distalnog dijela koštane cijevi. U nekim slučajevima, potreban je poprečni presjek koštane cijevi. U tom slučaju, proksimalni i distalni okrajak se ostavljaju zajedno.

*Lokacija i relativna veličina uzorka lisnjače
(Prikazana je desna lisnjača)*



Kosti stopala

Kosti donožja i gležnajska kost su preferirane kosti, kada se uzorkuje kompletno stopalo. Međutim prioriteti će varirati u zavisnosti od dostupnih elemenata i očuvanosti.

Članci stopala

Prvi prioritet je 1. proksimalni članak (označeno crnom bojom).
Drugi prioritet je 2. proksimalni članak (označeno sivom bojom) ili drugi veliki članak stopala.

Kosti donožja

Prvi prioritet je 5. kost donožja (označeno crnom bojom).
Drugi prioritet je 1. kost donožja (označeno sivom bojom).

Manje kosti nožja

Prvi prioritet je kompletna čunasta kost (označeno crnom bojom).
Drugi prioritet je kockasta kost (označeno sivom bojom).

Gležnajska kost

Može se uzorkovati kompletna ili većinom kompletna gležnajska kost.

Petna kost

Stražnji dio ili tijelo petne kosti (označeno crnom bojom) je prvi prioritet za petnu kost.

