INDICATIEVE TESTEN VOOR BLOED

Een alternatief voor de tetrabasetest

Scriptie

Loci Forensics B.V.
Martin Eversdijk

Vertrouwelijk: ja

De Hogeschool van Amsterdam
BSc Forensisch Onderzoek

13 januari 2020

Begeleidend docent: Brenda Hendriks

Grietje Willemsen
500730449

Voorwoord

Dit document betreft een scriptie. Betrokken bij dit project zijn Loci Forensics B.V. en de Hogeschool van Amsterdam.
Er is een onderzoek uitgevoerd, welke deels theoretisch en deels empirisch is. De scriptie is het afstudeeronderdeel voor de Bachelor of Science Forensisch Onderzoek.

Tijdens het afstudeeronderzoek wordt er onderzocht waarom de tetrabasetest in Nederland in het forensisch onderzoek als indicatieve test voor bloed wordt gebruikt. Er zitten zowel voor- als nadelen aan deze test. Er wordt vergelijkend onderzoek uitgevoerd tussen de tetrabasetest, de Combur 3 E test en de Kastle-Meyer test. Alle drie deze testen zijn indicatieve testen voor bloed. De vraag die beantwoord wordt is in hoeverre deze testen gebruiksvriendelijker zijn en als mogelijke vervanging kunnen dienen.

Loci Forensics B.V. is opgestart door Martin Eversdijk en René Gelderman. Beide werkzaam (geweest) bij de forensische opsporing in Nederland. Ze hebben onder andere luminol naar Nederland gebracht en lumiscene gefabriceerd. Martin geeft lezingen en cursussen in het binnen- en buitenland over bloedspoorpatroon analyse en voert zelf ook analyses in zaken uit. Bij Loci Forensics B.V. worden ook onder andere second opinions uitgevoerd.
Dit onderzoek heeft geen commerciële doeleinden voor Loci Forensics.

Ik ben in september 2019 gestart als stagiaire binnen dit bedrijf en ik heb in deze tijd onder andere mijn certificaat mogen behalen voor de ‘Basic Bloodstain Pattern Analysis’ course op 13 september. Ik ben mee gegaan naar de bloedspoorpatroon analyse dag van de forensische opsporing en het Nederlands Forensisch Instituut. Ik heb een beginnend netwerk kunnen opbouwen en sta zo aan een mooi begin van mijn carrièreloopbaan.

Ik ben in september met veel plezier begonnen aan het afstuderen en kijk met een goed gevoel terug op de afgelopen periode. Ik ben Martin en René dankbaar voor deze kans en de leuke en leerzame tijd.

Grietje Willemsen

13 januari 2020, Nieuw-Vennep

Samenvatting

In het forensisch onderzoek in Nederland wordt de tetrabasetest gebruikt als indicatieve test voor bloed. Veel voorkomende testen die worden gebruikt in het forensisch onderzoek in andere landen zijn de Kastle-Meyer test en de Combur 3 E test. De tetrabasetest brengt een aantal nadelen met zich mee: de test heeft een “shelf life” van één maand, de test is toxisch, de test is niet erg specifiek en de test kent een 2-stapsmethode wat de test enigszins meer tijdsintensief maakt. Het is belangrijk dat werknemers veilig en efficiënt kunnen werken, waarbij waarheidsvinding centraal staat.
Deze drie testen zijn nog nooit onder dezelfde omstandigheden en door dezelfde onderzoeker(s) vergeleken met elkaar. Met deze informatie in gedachte lijkt het zeer belangrijk dat de Kastle-Meyer test, de Combur 3 E test en de tetrabasetest in Nederland onderzocht worden op de prestatiekenmerken herhaalbaarheid, aantoonbaarheidsgrens, robuustheid en selectiviteit, maar ook op de gebruiksvriendelijkheid.

Dit leidt tot de volgende hoofdvraag:
“In hoeverre zijn de Kastle-Meyer test en de Combur test alternatieven voor de tetrabasetest in het huidige forensisch onderzoek in Nederland, kijkend naar gebruiksvriendelijkheid en prestatiekenmerken?”

De indicatieve testen voor bloed worden vergeleken aan de hand van aspecten welke zijn onderverdeeld in bovengenoemde prestatiekenmerken:

- Deelonderzoek 1: stabiliteit over tijd van de testen;
- Deelonderzoek 2: stabiliteit over temperatuur van de testen;
- Deelonderzoek 3: detectiegrens bepaald over bloedverdunningen;
- Deelonderzoek 4: detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed;
- Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling;
- Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen;
- Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven;
- Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene.

Uit interviews is informatie gehaald en aan de hand daarvan zijn onderstaande aspecten vergeleken:

- Deelonderzoek 9: de opinie van forensisch onderzoekers;
- Deelonderzoek 10: het kostenplaatje.

Wat is gebleken is dat de Combur test het beste presteert (twee keer samen met de Kastle-Meyer test) op alle deelonderzoeken, behalve deelonderzoek 4.
Dit bekent dat de Combur test het beste uit de test komt bij de prestatiekenmerken aantoonbaarheidsgrens en robuustheid. Selectiviteit deelt de Combur 3 E test met de Kastle-Meyer test. Herhaalbaarheid is in alle deelonderzoeken meegenomen door de indicatieve testen voor bloed in triplo te testen, waarbij de Kastle-Meyer test het meest herhaalbaar is.
Uit de interviews is gebleken dat een groot deel van de respondenten graag een gevoelige test, een non-toxische test en een test die vals-positieven kan onderscheppen (2-stapsmethode) ziet. De respondenten staan open voor verbeteringen of veranderingen en er is interesse en belangstelling voor de Combur 3 E test. Over het algemeen staan de respondenten niet open voor het gebruik van de KM-test vanwege eerder vergelijkend onderzoek met negatief resultaat.

Antwoord op de hoofdvraag is hierbij dat de Combur 3 E test de eigenschappen bezit om als alternatief te kunnen dienen voor de tetrabasetest. Echter wel met de aanbeveling om de destructiviteit van de Combur 3 E test op DNA te onderzoeken. De test zou zowel direct- als indirect kunnen worden toegepast en de chemicaliën zouden niet interfereren met het DNA. In dit onderzoek is runderbloed gebruikt van één donor. Een aanbeveling is een validatie uitvoeren voor de Combur 3 E test op menselijk bloed waarbij de destructiviteit naar DNA wordt onderzocht en de interferentie met DNA.

Inhoudsopgave

Voorwoord 1

Samenvatting 2

1. Afkortingenlijst 5

2. Inleiding 6

2.1 Aanleiding 6

2.2 Probleemstelling 6

2.3 Doel 6

2.4 Hoofd- en deelvragen 7

2.4.1 Hoofdvraag 7

2.4.2 Deelvragen 7

2.5 Leeswijzer 7

3. Literatuur 8

3.1 Geschiedenis indicatieve testen voor bloed 8

3.2 Wetten en voorschriften voor indicatieve testen voor bloed 8

3.2.1 FO-normen 8

3.3 Introductie bloed 10

3.3.1 Het stollingsproces 10

3.4 Indicatieve testen voor bloed 10

3.4.1 Katalytische kleurtesten 11

3.4.2 Chemoluminescentie en fluorescentie 16

4. Methodologie 19

4.1 Afbakening 19

4.2 Het vergelijkend onderzoek 19

4.2.1 Empirisch onderzoek 20

4.2.2 Interviews 25

5. Resultaten en discussie 27

5.1 Vergelijkend onderzoek 27

5.1.1 Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen 27

5.1.2 Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen 27

5.1.3 Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen 27

5.1.4 Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed 29

5.1.5 Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling 29

5.1.6 Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen 30

5.1.7 Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven 31

5.1.8 Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene 33

5.2 Interviews 34
5.2.1 Deelonderzoek 9: de opinie van forensisch onderzoekers 34
5.2.2 Deelonderzoek 10: het kostenplaatje 37
5.3 Overkoepelende discussie 38
5.3.1 Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen 38
5.3.2 Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen 38
5.3.3 Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen 38
5.3.4 Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed 39
5.3.5 Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling 39
5.3.6 Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen 39
5.3.7 Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven 40
5.3.8 Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene 40
5.3.9 Deelonderzoek 9: de opinie van forensisch onderzoekers 40
5.3.10 Deelonderzoek 10: het kostenplaatje 40
5.3.11 Prestatiekenmerken 41
6. Conclusie 42
7. Aanbevelingen 43
8. Literatuurlijst 44
9. Bijlagen 46
9.1 Bijlage 1: interviews 46
9.2 Bijlage 2: het kostenplaatje 52
9.3 Bijlage 3: de fotobijlage 54
9.3.1 Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen 54
9.3.2 Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen 56
9.3.3 Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen 57
9.3.4 Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed 62
9.3.5 Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling 65
9.3.6 Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen 68
9.3.7 Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven 70
9.3.8 Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene 79

1. Afkortingenlijst

TB-test	-	tetrabasetest
PD	-	plaats delict
KM-test	-	Kastle-Meyer test
DNA	-	desoxyribonucleïnezuur
TMB	-	tetramethylbenzidine
FO-normen	-	forensische opsporingsnormen
FT-normen	-	forensisch technische normen
SGB-FO	-	Strategische Beleidsgroep Forensische Opsporing
GRAM	-	Gemeenschappelijk Research voor Advies en Materialen
EGFO-V	-	Expertroep Forensische Opsporing-Vakinhoud
EDTA	-	ethyleendiaminetetra-azijnzuur
(l)	-	left
(c)	-	centre
(r)	-	right
BPA	-	bloedspoorpatroon analyse
NFI	-	Nederlands Forensisch Instituut
FO	-	Forensische Opsporing
Lab	-	laboratorium

2. Inleiding

2.1 Aanleiding

In het forensisch onderzoek in Nederland wordt de tetrabasetest (TB-test) gebruikt als indicatieve test voor bloed. De test wordt ingezet op de plaats delict (PD) en in het laboratorium. In het buitenland wordt de TB-test vrijwel niet gebruikt voor deze doeleinden. Veel voorkomende testen die worden gebruikt in het forensisch onderzoek in andere landen zijn de Kastle-Meyer test (KM-test) en de Combur 3 E test [1].
De TB-test brengt een aantal nadelen met zich mee, waar andere indicatieve testen voor bloed niet over beschikken. Nadelen van de TB-test zijn dat deze test elke maand moet worden gemaakt door laboratoriummedewerkers, de test is toxisch en brengt hierom gevaren met zich mee. Deze gevaren zijn het grootst bij het maken van de test, omdat de test zich nog niet in oplossing bevindt. De test kent een 2-stapsmethode, wat de test meer tijdsintensief maakt dan een test met een 1-stapsmethode. Ook kent de TB-test een aantal vals-positief reagerende substanties, wat de test niet uiterst specifiek maakt. De test dient elke maand opnieuw gemaakt worden vanwege de houdbaarheid [1].

Het is belangrijk dat werknemers veilig kunnen werken met een test waarbij waarheidsvinding centraal staat en daarnaast ook snel en efficiënt kunnen werken. Nederland is een van de weinige landen die gebruik maakt van de TB-test. De KM-test en de Combur test worden in veel landen gebruikt [1]. Dit geeft aanleiding tot onderzoek.

2.2 Probleemstelling

De TB-test is niet representatief, omdat deze onstabiel wordt over tijd en temperatuur. Daarnaast zitten er giftige bestanddelen in de test en de voorbereiding van de test is tijdsintensief. Toch wordt de test gebruikt op de plaats delict, aangezien er momenteel geen alternatieve mogelijkheden zijn gevalideerd voor forensische toepassing in Nederland.
In landen als Ierland, Schotland, Engeland, Noorwegen, Zweden, Finland, Denemarken, Italië en Kroatië worden testen als de KM-test en de Combur test gebruikt als indicatieve testen voor bloed in het forensisch werkveld [1]. De KM-test en de Combur test delen de voordelen van de TB-test (goedkoop en simpel in gebruik), maar voegen hier ook nog aan toe dat deze minder tijdsintensief, niet schadelijk voor de gezondheid en bovenal stabiel (Combur test) en specifieker (KM-test) zijn. De werkzame stoffen in beide testen reageren op de Fe^{2+} ionen in de hemoglobine in het bloed. Deze drie testen zijn nog nooit onder dezelfde omstandigheden en door dezelfde onderzoeker(s) vergeleken met elkaar.
Met deze informatie in gedachte lijkt het zeer belangrijk dat de KM-test, de Combur test en de TB-test in Nederland onderzocht worden op de prestatiekenmerken herhaalbaarheid, aantoonbaarheidsgrens, robuustheid en selectiviteit, maar ook de gebruiksvriendelijkheid van de testen om zo een totaal beeld te kunnen vormen van deze indicatieve testen voor bloed.
Dit wordt onder dezelfde omstandigheden en door dezelfde onderzoeker uitgevoerd, waarin ook de effecten van luminol en lumiscene worden meegenomen en hiermee dus zowel patente als latente sporen worden meegenomen.

2.3 Doel

Aan de hand van theorie, gebruiksvriendelijkheid en prestatiekenmerken een vergelijkend onderzoek uitvoeren tussen de tetrabasetest, de Kastle-Meyer test en de Combur test om, indien blijkt dat dit nodig is, een alternatief voor de tetrabasetest te kunnen aanwijzen, zodat indicatief bloedonderzoek geoptimaliseerd kan worden.

2.4 Hoofd- en deelvragen

2.4.1 Hoofdvraag

In hoeverre zijn de Kastle-Meyer test en de Combur test alternatieven voor de tetrabasetest in het huidige forensisch onderzoek in Nederland, kijkend naar gebruiksvriendelijkheid en prestatiekenmerken?

2.4.2 Deelvragen

Theoretisch

- Wat is de geschiedenis in het forensisch onderzoek van indicatieve testen voor bloed?
- Welke wetten of vastgelegde regels buiten de FO-normen om zijn er over het gebruik van indicatieve testen voor bloed?
- Wat beschrijven de FO-normen?
- Wat zijn de principes van de TB-test, de KM-test en de Combur test?
- Wat zijn de principes van luminol en lumiscene en wat voor effect hebben zij op indicatieve testen voor bloed?

Empirisch onderzoek

Vergelijkend onderzoek

- Wat zijn de resultaten van de prestatiekenmerken van de TB-test in het vergelijkend onderzoek?
- Wat zijn de resultaten van de prestatiekenmerken van de KM-test in het vergelijkend onderzoek?
- Wat zijn de resultaten van de prestatiekenmerken van de Combur test in het vergelijkend onderzoek?
- Welke test komt per prestatiekenmerk het beste uit het onderzoek en waarom?
- Wat zijn de resultaten van de testen bij toepassing vóór en ná luminol en lumiscene?

Interviews

- Wat voor ervaring hebben werknemers bij de FO/NFI in Nederland en buitenland met het gebruik van de TB-test, de KM-test en de Combur test?
- Wat voor verschillen zijn er in het voorbereiden van, het opslaan van en het gebruik van de TB-test per eenheid of binnenin eenheden in Nederland?
- Zijn er redenen waarom we in Nederland niet werken met andere indicatieve testen voor bloed?
- Wat voor indicatieve testen voor bloed worden er in het buitenland gebruikt en wat zijn hier de voor- en nadelen van?
- Wat voor stappen zouden ondernomen moeten worden om de verandering teweeg te kunnen brengen tussen het gebruik van de TB-test en een andere indicatieve test voor bloed of dit werkelijk in te kunnen voeren?

2.5 Leeswijzer

Waar in dit verslag wordt gesproken over ‘indicatieve testen’, wordt hiermee uitsluitend ‘indicatieve testen voor bloed’ bedoeld. Waar in dit verslag wordt gesproken over ‘de Combur test’, wordt hiermee uitsluitend ‘de Combur 3 E Test’ bedoeld.
In hoofdstuk 3 wordt relevante literatuur weergegeven voor bovenstaand vraagstuk. In hoofdstuk 4 wordt de methodologie van het onderzoek besproken. In hoofdstuk 5 staan de resultaten welke zijn bediscussieerd mede aan de hand van de literatuur uit hoofdstuk 3. In hoofdstuk 6 staat de hierop volgende conclusie en in hoofdstuk 7 de hierop volgende aanbevelingen. In hoofdstuk 8 staat de literatuurlijst met alle bronnen gebruikt voor het vinden van de relevante literatuur. In hoofdstuk 9 staan alle bijlagen waar naar wordt verwezen bij het lezen van deze scriptie.

3. Literatuur

3.1 Geschiedenis indicatieve testen voor bloed

De TB-test wordt al een aardige tijd gebruikt in Nederland en sinds het desoxyribonucleïnezuur (DNA) onderzoek vanaf 1986 kan worden ingezet, is de TB-test niet meer weg te denken. Er zijn verscheidene soorten indicatieve testen voor bloed. Door de ontwikkelingen heen in het forensisch onderzoek hebben zij plaats moeten maken voor vernieuwende testen. Een veel gebruikte test tot 1974 was benzidine. In dat jaar is de test gedocumenteerd vanwege zijn carcinogene eigenschap door de Occupational Safety en Health Administration. Nadat deze test in 1974 niet meer gebruikt mocht worden, is men gaan werken met een derivaat van benzidine, o-tolidine. Echter bleek deze test ook carcinogeen. In 1981 was o-tolidine het actieve ingrediënt in de Hemastix. Echter is o-tolidine ook als carcinogeen bevonden in 1974 omdat o-tolidine in het menselijk lichaam kan worden gemetaboliseerd in zijn “parent compound”. O-tolidine is vervangen door tetramethylbenzidine (TMB) in 1992. Tetramethylbenzidine is vandaag de dag nog steeds het actieve ingrediënt in de Hemastix en ook in de Combur test [2].
Er zijn nog tal van indicatieve testen die momenteel worden ingezet in verscheidene landen om een indicatie van bloed te verkrijgen. Er is geen uniformiteit in het gebruik van indicatieve testen tussen landen in Europa [1].

3.2 Wetten en voorschriften voor indicatieve testen voor bloed

Forensisch onderzoek is een snel ontwikkelend vakgebied. Er wordt continu gewerkt aan verbeteringen en nieuwe uitvindingen om forensisch onderzoek efficiënter en meer waarheidsgetrouw te maken. Over DNA-onderzoek en het afnemen van humaan biologisch materiaal bij bijvoorbeeld verdachten zijn regels vastgelegd in de vorm van wetten. Over het gebruik van indicatieve testen is niks vastgelegd in de Nederlandse wetboeken [3]. Plaats delict onderzoekers hebben de vrijheid en ruimte om onderzoek te doen naar eigen expertise en kunnen zelf invulling geven aan de manier waarop zij onderzoek doen. Dit onderzoek voeren zij uit aan de hand van methodes die zij naar eigen ervaring het best vinden passen bij de zaken waar zij aan werken. Om onderzoekers bij de forensische opsporing richtlijnen te geven over hoe bepaald onderzoek het beste uitgevoerd kan worden zijn er forensische opsporingsnormen (FO-normen) opgesteld. Deze normen beschrijven de wijze waarop bepaald onderzoek uitgevoerd kan worden, mocht gekozen worden dit onderzoek uit te voeren. De FO-normen zijn richtlijnen en hier mag van worden afgeweken. Wanneer er wordt afgeweken van een FO-norm, moet dit gedocumenteerd worden met argumentatie in het proces-verbaal. Als het niet nodig is om af te wijken van een FO-norm, dan dient de FO-norm gevolgd te worden [4].

3.2.1 FO-normen

Het bestaan en het volgen van de FO-normen heeft als doel om uniformiteit te creëren op een wetenschappelijke en praktische manier, wat ook juridisch voordelen heeft.

‘*Een FO-norm is een standaard werkwijze bij het onderzoeken en veiligstellen van forensische sporen en sporendragers. Deze standaard werkwijze beschrijft handelingen die kritisch zijn voor de integriteit van het spoor en de kwaliteit van het forensisch vervolgonderzoek [5].’*

Vóór de FO-normen, werd er gebruikt gemaakt van forensisch technische normen (FT-normen). In 2009 heeft de Strategische Beleidsgroep Forensische Opsporing (SGB-FO) opdracht gegeven aan de Gemeenschappelijk Research voor Advies en Materialen (GRAM) werkgroep om de oude FT-normen te herzien en om over te stappen naar FO-normen. Dit is gebeurd vanwege het toenemende belang van de normen als kwaliteitsinstrument in het forensisch veld. Er was formele inkadering nodig van de normen. Goedkeuring van de nieuwe normen is gedaan door de Expertroep Forensische Opsporing-Vakinhoud (EGFO-V) en de SGB-FO [5].

De volgende alinea, tussen de dubbele aanhalingstekens, is geciteerd uit bron 5 (zie hoofdstuk 8: literatuurlijst):

"Proces
De SBGO-FO is eigenaar van de FO-normen en valideert de FO-normen. Het opdrachtgeverschap wordt gedelegeerd aan de EGFO-V. De EGFO-V beslist over de noodzaak voor een nieuwe of ter wijziging aangeboden FO-norm. Bij positief besluit geeft de EGFO-V opdracht tot productie van de norm, beoordeelt het uiteindelijk opgeleverde product (de FO-norm) en legt dit ter validatie voor aan de SBGFO. GRAM is verantwoordelijk voor het proces van in behandeling nemen van de aanvraag tot en met de productie van de FO-norm. Na validatie door de SBG-FO draagt GRAM de FO-norm over aan de beheerder van de FO-normen. De actuele normen worden gepubliceerd op Politie Kennis Net."

De FO-normen zijn ondergeschikt in 13 categorieën, waarvan de relevante categorieën voor indicatieve testen zijn:

- 1.01 Generieke normen
- 2.02 Humane biologische sporen

De generieke normen zijn van toepassing op alle onderzoeken, waarbij deze normen in grote lijnen beschrijven hoe bewijsmateriaal kan worden veiliggesteld, verpakt, gewaarmerkt en getransporteerd. De FO-normen die van toepassing zijn op indicatieve testen zijn de normen over humane biologische sporen. FO-norm 02.10 is een algemene norm, 02.20 en 02.70 gaan specifiek over bloedsporen [4].

3.2.1.1 FO-norm 02.10

In FO-norm 02.10 'Veiligstellen van humaan biologische sporen' staat aangegeven dat wanneer er na het veiligstellen van een biologisch spoor een indicatieve test wordt toegepast, hier de specifieke FO-norm voor het betreffende spoorsoort hoort toegepast te worden en de gebruiksaanwijzing van deze test gevolgd dient te worden [6]. In de toelichting van deze norm wordt toegelicht dat de keuze voor de test (mede) bepaald kan worden door een inzendcriteria dat bepaalt dat een indicatieve test verplicht is gesteld of door de context van de zaak en de in te zetten onderzoeken of bevoegdheden [7]. Er wordt hier niet aangegeven welke test gekozen dient te worden.

3.2.1.2 FO-norm 02.20

In FO-norm 02.20 'Veiligstellen van bloedsporen' staat aangegeven dat monsterafname ten behoeve van de indicatieve test na het veiligstellen van het spoor dient te gebeuren [8]. In de toelichting van deze norm wordt toegelicht dat er gekozen kan worden uit de TB-test of de Hexagon Obti test. Aangegeven wordt dat er geen werkwijze kan worden gegeven omdat de werking van de indicatieve test per type verschilt. Als er bij de test een gebruiksaanwijzing is opgenomen of wanneer er een voorschrift bestaat, dient deze gevolgd te worden [9]. Er worden hier twee opties gegeven om uit te kiezen bij het uitvoeren van indicatief bloedonderzoek.

3.2.1.3 FO-norm 02.70

In FO-norm 02.70 'Behandelingsmethoden voor sporen geplaatst met bloed' staat aangegeven dat benodigdheden voor het detecteren van bloed zijn: de TB-test en een humaan-specifieke bloedtest. Ook staat er aangegeven bij de voorbereidingshandelingen dat het spoor getest dient te worden met tetrabase en indien noodzakelijk er een humaan-specifieke test toepast dient te worden [10]. In de toelichting van deze norm wordt toegelicht dat de TB-test en indien noodzakelijk een humaan-specifieke test toegepast dienen te worden. Ook staat er toegelicht dat er bij een positief tetrabase resultaat een bloedspoorverbeteringsmethode dient te worden toegepast [11]. Er worden hier twee

opties gegeven om uit te kiezen bij het uitvoeren van indicatief bloedonderzoek en dat na dit onderzoek en bloedspoorverbeteringsmethoden toegepast kunnen worden.

3.3 Introductie bloed

Een volwassen menselijk lichaam bevat ongeveer 4,5 tot 6 liter bloed. Bloed circuleert door het lichaam door het pompen van het hart. Bloed transporteert zuurstof, elektrolyten, voedingsstoffen, hormonen, vitamines en antilichamen door weefsel. Ook zorgt bloed voor de transport van afvalstoffen naar uitscheidingsorganen [2, 12].
Bloed bestaat uit plasma en bloedcellen. Plasma vervoert de bloedcellen door het lichaam. Er zijn drie soorten bloedcellen: rode bloedcellen, witte bloedcellen en bloedplaatjes. Wanneer bloed zich buiten het lichaam bevindt, zal het bloed stollen. Het stollingsproces wordt veroorzaakt door bloedplaatjes en eiwitten in het plasma. Het plasma raakt zijn eiwitten hierdoor kwijt en wordt in deze staat serum genoemd. Bloed krijgt zijn rode kleur door de hemoglobine in de rode bloedcellen. Hemoglobine vervoert zuurstof van de longen naar het arterieel systeem en geeft daar koolstofdioxide voor terug. In hemoglobine zit het Fe2+ ion. Wanneer bloed zich buiten het lichaam bevindt, wordt het blootgesteld aan zuurstof en ontstaat er een redox reactie. Fe2+ wordt Fe3+. Het celmembraan van de rode bloedcellen moet hiervoor openbreken. Het openbreken kan worden veroorzaakt door het drogen van het bloed, maar ook door een reactie met chemicaliën.
Witte bloedcellen vallen lichaamsvreemde stoffen aan en bestrijden zo infecties. Ook helen zij wonden. Dit doet het lichaam door witte bloedcellen naar wonden te sturen om bloedingen en bloedverlies stoppen. De witte bloedcellen worden met de richting van de bloedstroom mee gestuurd, wat resulteert in een hogere concentratie van witte bloedcellen in de locatie waar de wond is ontstaan. De kern van de witte bloedcellen bevat het DNA wat nodig is om een autosomaal DNA-profiel te verkrijgen [2, 12].

De rode bloedcellen zijn nodig om bloed te kunnen detecteren en de witte bloedcellen zijn nodig om een DNA-profiel te kunnen genereren. In een milliliter bloed zitten 4 miljard tot 6 miljard rode bloedcellen en 4 miljoen tot 10 miljoen witte bloedcellen [13, 14, 15, 16].

3.3.1 Het stollingsproces

Bloedplaatjes en eiwitten in het plasma zorgen voor het stollingsproces. Echter wanneer bloed wordt afgenomen van bijvoorbeeld een patiënt voor onderzoek wil men het stollingsproces tegengaan. Het stollingsproces wordt voorkomen door een anticoagulantia, ook wel antistollingsmiddel, toe te voegen aan een bloedmonster. Bij afgenomen bloedmonsters kan ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) worden toegevoegd. EDTA is een chelerende organische verbinding en vangt en verwijderd calcium en metalen in het bloed om de stolling van het bloed tegen te gaan. Dit versterkt de werking van antioxidanten en remt bepaalde enzymen met een peroxidase activiteit [17, 18, 19, 20]. Het toevoegen van EDTA kan hierdoor mogelijk vals-positieve reacties laten afnemen en vals-negatieve reacties laten toenemen [21].

3.4 Indicatieve testen voor bloed

In het forensisch onderzoek in Nederland worden er op de plaats delict indicatieve testen ingezet met als doel het generen van een DNA-profiel en het kunnen uitvoeren van reconstructie. Om deze onderzoeken te kunnen uitvoeren met succesvol resultaat, is de aanwezigheid van rode bloedcellen en witte bloedcellen nodig. De rode bloedcellen zijn nodig vanwege de Fe2+ waar vele testen mee reageren om het bloed aan te kunnen tonen en de witte bloedcellen zijn nodig voor het DNA.
Voordat DNA-onderzoek en reconstructie kunnen worden uitgevoerd, is het belangrijk vast te stellen of het daadwerkelijk om bloed gaat. Alleen visueel onderzoek is niet voldoende. Er moet met een bepaalde wetenschappelijke zekerheid een uitspraak gedaan kunnen worden over of een substantie bloed is.

Op een plaats delict wordt er eerst met het blote oog gekeken naar wat mogelijk bloed kan zijn, wanneer hier redelijk vermoeden van bestaat worden indicatieve testen ingezet zoals de TB-test. De TB-test kan per bloedspoor of bloedspoorpatroon worden ingezet. Wanneer de indicatieve test een positief resultaat geeft kan er een humaan-specifieke test worden ingezet, één per bloedspoorpatroon om te bevestigen dat waarschijnlijk het hele bloedspoorpatroon om humaan bloed gaat. De humaan-specifieke test voor bloed die in Nederland wordt gebruikt, is de Hexagon Obti test. Ongeacht het resultaat van een test, zal er moeten worden nagedacht of een spoor wel of niet wordt meegenomen. Een positief- of negatief resultaat geven beide geen garantie. Bij het maken van deze keuzes, wordt er beroep gedaan op de expertise van de onderzoekers [2].

In Nederland wordt luminol- of lumiscene onderzoek ingezet als bloedzoekmethode om te zoeken naar latente sporen. Na het gebruik van deze luminescentie technieken wordt er nog gebruik gemaakt van de TB-test. Zowel luminol, als lumiscene als de TB-test kunnen worden gezien als indicatieve testen: een kleurreactie of een luminescentiereactie. Alle reacties ontstaan door de katalyserende eigenschappen van het bloed: het Fe2+ ion.
Omdat Fe2+, buiten het lichaam en naarmate de tijd vordert, oxideert naar Fe3+ (zie formule 1), werken de testen beter bij verouderd bloed [2].

$$Fe^{2+} + O_2 \rightarrow Fe^{3+} + O_{2^-}$$

$$Formule\ 1: oxidatief formule.$$

Er wordt onderscheid gemaakt tussen de twee categorieën: indicatieve testen en “confirmatory” testen. De tetrabasetest en luminescentie technieken zijn indicatieve testen. Zij geven aan dat er mogelijk bloed is gevonden. “Confirmatory” testen zijn testen zoals de Hexagon Obti test, welke met een grotere zekerheid het specifieke celmateriaal kunnen identificeren [22].

De meest ideale test zou specifiek voor humaan bloed zijn, zo gevoelig mogelijk, robuust, reproduceerbaar en betrouwbaar in de specifieke forensische context. Indicatieve testen zijn heel gevoelig, robuust, reproduceerbaar en hebben maar weinig monster nodig, maar ze hebben vaak geen specificiteit. Dit houdt in dat zij vals-positieven kennen. Hierdoor geven zij geen betrouwbare identificatie en is er verder onderzoek nodig. Hiervoor worden de “confirmatory” testen gebruikt. Het nadeel van deze testen is dat zij een grotere hoeveelheid monster nodig hebben. Wanneer er heel weinig bloed aanwezig is, is dit niet gewenst want ze kunnen een negatief effect hebben op de DNA-analyse. Ze zijn vaak minder sensitief, vooral bij gedegradeerd bloed door het gebruik van chemicaliën of omgevingsfactoren zoals vocht en temperatuur. Ze zijn vaak minder robuust dan de indicatieve testen en de kosten voor deze testen liggen hoger [23].

3.4.1 Katalytische kleurtesten

Veel indicatieve testen zijn katalytische kleurtesten [23]. Deze testen werken door de chemische oxidatie van een chromogene substantie (de kleurtest) door een oxidatiemiddel (peroxide) in de aanwezigheid van hemoglobine. Dit houdt in dat de stof door opname van een functionele groep van kleur verandert. Hemoglobine heeft een peroxidase activiteit. Peroxidases zijn een klasse enzymen die oxidatie katalyseren van “compounds” in de aanwezigheid van peroxide. Dit vormt de basis van de indicatieve testen [24]. De reactie die hoort bij deze testen ziet er uit als onderstaande vergelijking (zie formule 2).

$$Chromogene\ substantie + oxidatiemiddel \xrightarrow{Hemoglobine} H_2O + kleurverandering$$

$$Formule\ 2: werking\ van\ een\ katalytische\ kleurtest.$$

Van het mogelijke bloedspoor wordt een monster afgenomen, meestal met een filtreerpapiertje of een swab, waar de kleurtest op wordt uitgevoerd. Dit wordt gedaan om destructie van het spoor te voorkomen. De chromogene substantie wordt gedruppeld op het afgenomen monster. Als derde stap wordt het oxidatiemiddel op het afgenomen monster gedruppeld. Dit oxidatiemiddel is vaak een waterstofperoxide oplossing of een bariumperoxide oplossing. De katalysator is de heemgroep in de hemoglobine waar het Fe2+ ion in zit. Een snel optredende verandering van kleur duidt op een positieve reactie [2, 23, 25].
Er zijn ook methodes waar de chromogene substantie en het oxidatiemiddel in één oplossing zitten. Een nadeel van deze 1-stapsmethode is dat de detectie van een vals-positieve reactie ontbreekt. Namelijk wanneer een stof vals-positief zou reageren, ziet men dat bij de 2-stapsmethode vaak na het aanbrengen van de eerste stap met de chromogene substantie. Na het aanbrengen van de eerste stap, komt in dit geval vaak de verkleuring al opzetten.
Vals-positieve reacties zijn voor veel testen bekend en komen vaak redelijk overeen bij de testen onderling vanwege dezelfde principes waar zij volgens werken. Een vals-positieve reactie is een positief testresultaat op een andere substantie dan bloed [2]. Veel vals-positieve reacties zijn chemische oxidatiemiddelen, plantperoxidases, substanties van dierlijke origine welke sporen van bloed bevatten en metaalionen [2, 23, 24]. De peroxidase activiteit is niet exclusief voor bloed alleen en hiermee ontstaat de mogelijkheid tot vals-positieve resultaten. Bij een vals-positieve reactie wordt er een oxide ion van de peroxide afgebroken en vervolgens opgenomen door de chromogene substantie wat leidt tot een vals-positieve reactie [26].

Over vals-negatieve reacties is minder bekend dan over vals-positieve reacties. Hoe vals-positieve reacties bevorderd worden door een oxidatiemiddel, kunnen vals-negatieve reacties ontstaan door een reductiemiddel, zoals de antioxidant ascorbinezuur (vitamine C) (zie formule 3) [2].
Antioxidanten in bijvoorbeeld frambozen kunnen complexen vormen met metaalionen, waardoor de oxidatie van metalen door zuurstof wordt voorkomen [20]. Dit verklaart waarom antioxidanten een vals-negatieve reactie kunnen geven in tegenstelling tot geoxideerde metalen. Antioxidanten kunnen een remmende werking hebben op peroxidases.
Vals-positieven en vals-negatieven is een studie an sich. Veel planten bevatten zowel peroxidases als antioxidanten. Niet alle peroxidases zullen een vals-positief testresultaat geven en niet alle antioxidanten zullen een vals-negatief testresultaat geven. [20, 27, 28]. Een negatief resultaat kan na een aantal minuten langzaam een positief resultaat worden door de langzame oxidatie [2]. Een negatief resultaat kan een indicatie zijn voor dat er geen hemoglobine aanwezig is in het monster of dat de concentratie van de hemoglobine lager ligt dan de sensitiviteit van de test. Een andere verklaring kan zijn dat er een vals-negatief resultaat is verkregen.

De kans op vals-positieven en vals-negatieven is niet gekwantificeerd. Dit maakt de interpretatie van een positieve test lastig [22]. Uiteindelijk is het belangrijk om bewust te blijven dat bij tests die veel worden gebruikt, en ook al bewezen hebben dat ze robuust zijn over tijd, er toch condities zijn die vals-positieve reacties kunnen verkrijgen. Het herkennen van zulke omstandigheden en vereiste controletests uitvoeren zijn sleutelwoorden om validiteit te bereiken voor elk resultaat [24].

$$Oxidatie: Fe \rightarrow Fe^{2+} + 2\,e^{-}$$
$$Reductie: O_2 + 4\,e^{-} \rightarrow 2\,O^{2-}$$

$$Formule\ 3: redoxreactie.$$

3.4.1.1 Tetrabasetest

De chemische naam van tetrabase is tetra-methyl-diaminodefenylmethaan (zie afbeelding 1). De test reageert met de Fe2+ ionen in de hemoglobine in bloed. De TB-test is een 2-stapsmethode. Van het mogelijke bloedspoor wordt met een filtreerpapiertje een monster genomen waaraan een druppel

tetrabase wordt toegevoegd. Wanneer er na deze eerste stap een blauwe kleur ontstaat duidt dit op een vals-positief resultaat (zie afbeelding 2). Bij de tweede stap wordt een druppel bariumperoxide toegevoegd. Bariumperoxide is de oxidator. Hierna hoort er voor een positief resultaat een blauwe kleur op te treden. Als er niet direct een blauw resultaat optreedt, kan dit duiden op een vals-positief resultaat. De TB-test is niet humaan-specifiek [29].

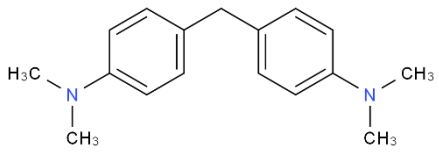
Vals-positieve reacties kunnen veroorzaakt worden door geoxideerde metalen, chloor en jodium [29].
Zoals besproken zijn langzaam optredende reacties en een reactie na stap één, indicaties voor een vals-positieve reactie, evenals een reactie waarbij er alleen kleine stipjes kleuren van het genomen monster of een lichtblauwe of groenige verkleuring [30]. Vals-positieve reacties zijn te herkennen aan de volgende kenmerken:

- De kleur die optreedt is licht blauw of turquoise/groen;
- De kleur ontwikkelt heel langzaam of na meerdere seconden;
- In plaats van een grote blauw vlek is er een klein stipje of zijn er kleine stipjes zichtbaar [29].

Tetrabase is een toxische stof. Het kan verkregen worden in poedervorm, wat hierna verwerkt wordt tot de vloeistof welke wordt toegepast als bloed indicatieve test. Tetrabase mag niet in aanraking komen met de huid en ogen en niet ingeslikt of geïnhaleerd worden. Tetrabase dient koud, droog en in een goed geventileerde ruimte bewaard te worden. Tetrabase is carcinogeen en schadelijk voor het milieu [31].

Bariumperoxide is een toxische stof en wordt, net zoals tetrabase, verkregen in poedervorm. Bariumperoxide mag niet in aanraking komen met de huid en ogen en mag niet worden ingeslikt of worden geïnhaleerd. Bariumperoxide dient koud, droog en in een goed geventileerde ruimte bewaard te worden. Bariumperoxide is ontbrandbare stof [32].

Zowel tetrabase als bariumperoxide worden vanuit hun poedervorm gemengd met azijnzuur en gedestilleerd water om de oplossingen te krijgen die worden toegepast als indicatieve test. Ook azijnzuur is toxisch en mag niet in aanraking komen met de huid en ogen en worden ingeslikt of worden geïnhaleerd. Azijnzuur is een ontbrandbare stof. Azijnzuur is schadelijk voor oppervlakte water en grondwater [33].
Zie tabel 1 voor het overzicht welke de vergelijking tussen de TB-test, de KM-test en de Combur tegen elkaar uitzet.



Afbeelding 1: structuurformule tetrabase [34].

Afbeelding 2: een positieve reactie van TB-test waar de herkenbare blauwe kleur te zien is [35].

3.4.1.2 Kastle-Meyer / Fenolftaleïne test

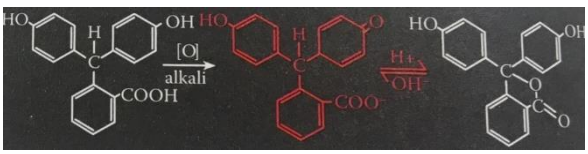
Vandaag de dag is de KM-test een test die binnen het forensisch werkveld wordt toegepast in veel verschillende landen. Nadat verschillende carcinogene indicatieve testen werden afgeschaft, is deze test voornamelijk overgenomen door laboratoria. De KM-test is net zoals de TB-test een 2-stapsmethode en wordt indirect toegepast met behulp van een swab. Het reagens in deze test is de gereduceerde vorm van fenolftaleïne in een alkalineoplossing. De gereduceerde vorm is transparant.

De fenolftaleïne raakt geoxideerd door de waterstofperoxide, die als tweede stap wordt toegevoegd, wanneer deze in aanraking komt met bloed. Fenolftaline, welke kleurloos is in alkalineoplossing, reduceert tot fenolftaleïne, welke roze is in een alkalische omgeving (zie afbeelding 3 en 4) [2, 36]. Het reduceren wordt vaak veroorzaakt door zink in kalium-hydroxideoplossing. Een vals-positief resultaat bij deze test is vaak een reactie waarbij een andere kleur op treedt dan roze [2].

Er is weinig onderzoek gedaan naar de sensitiviteit, de specificiteit en het effect op DNA-analyse van de KM-test. De sensitiviteit verschilt tussen poreuze en niet-poreuze ondergronden. Op een poreuze ondergrond zou de KM-test bloed kunnen detecteren in een verdunning van 1:16, maar op een niet-poreuze ondergrond tussen de 1:10.000 en 1:20.000. Wanneer er direct- of indirect testen wordt toegepast, is de test minder sensitief bij indirect testen. Bij indirect testen wordt er een monster afgenomen van het testmateriaal met een swab en wordt op deze swab de test toegepast [25]. Bij direct testen wordt de test direct op het aangetroffen monster aangebracht. In het geval van direct- of indirect testen, wordt indirect testen aanbevolen. De oorzaak hiervan is dat de natriumhydroxide, welke in de KM-test zit, schadelijk zou zijn voor het DNA [36]. De KM-test heeft een “shelf life” van een half jaar. De KM-test kent weinig vals-positieven en is hiermee specifieker dan de TB-test en de Combur test. De test kan vals-positief reageren met aardappel. De KM-test reageert niet vals-positief met bleek, zoals veel andere indicatieve testen wel doen [25]. Mogelijke bronnen van vals-positieve reacties zijn plantaardige peroxiden en chemische oxidatiemiddelen, zoals zouten van koper of nikkel [37]. Wel kunnen bloedverdunningen van 1:1.000.000, gedegradeerde monsters of monsters gecontamineerd met kleine hoeveelheden oxidatiemiddel vals-positieve reacties geven [26].

Het hoofdbestanddeel van de KM-test is fenolftaleïne. Voor het maken van de KM-test bevindt deze stof zich in poedervorm. Blootstelling aan deze stof kan de vruchtbaarheid schaden en de stof is carcinogeen. De stof mag niet in aanraking komen met de huid en ogen en is schadelijk bij inslikken en inhaleren. Ook is fenolftaleïne geclassificeerd als ontbrandbare stof. De stof dient opgeslagen te worden in een goed geventileerde ruimte [38]. Aan de KM-test wordt zink toegevoegd, wat schadelijk is voor het milieu [39]. Het andere ingrediënt voor de KM-test is natriumhydroxide. Ook natriumhydroxide mag niet in aanraking komen met de huid en ogen en is schadelijk bij inslikken en inhaleren. De stof moet droog worden bewaard in een goed geventileerde ruimte [40].

Waterstofperoxide wordt toegevoegd als tweede stap. Waterstofperoxide mag niet in aanraking komen met de huid en ogen en is schadelijk bij inslikken en inhaleren. De stof is schadelijk voor het milieu. Waterstofperoxide dient koel, donker en buiten het bereik van brandbare stoffen bewaard te worden. De stof is carcinogeen voor dieren, het is onbekend of waterstofperoxide ook carcinogeen is voor mensen [41].
Zie tabel 1 voor het overzicht welke de vergelijking tussen de TB-test, de KM-test en de Combur tegen elkaar uitzet.



Afbeelding 3: katalysatieproces fenolftaline
Fenolftaline (l) katalyseert naar fenolftaleïne (c) welke kleurloos is in een zuur (r) [2].

Afbeelding 4: een positieve reactie van de KM-test waar de herkenbare roze kleur te zien is [37].

3.4.1.3 Combur test

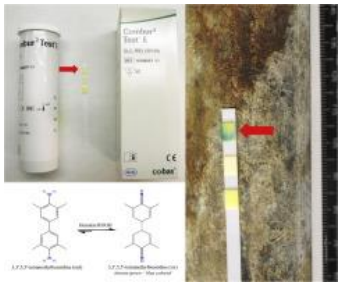
De Combur test bestaat in verschillende varianten, welke van origine zijn ontwikkeld als urinetesten. Er is een variant om bloed mee te detecteren, de Combur 3 E Test. Een positief resultaat is een

blauwgroene verkleuring op de teststrip (zie afbeelding 5). Een voordeel van de Combur test is dat hij heel simpel in gebruik is, maar ook heeft deze test een “shelf life” van zes maanden tot één jaar [42]. De Combur test heeft op zijn strip een gefilterde “pad” zitten waar het reagens op zit, bestaande uit tetramethylbenzidine (TMB) (zie 3.4.1.4) en 2,5-dimethyl-2,5-dihydroperoxyhexaan. De TMB is de reductor en de dimethyldihydroperossiesane is het oxidatiemiddel. Dit gefilterde ‘padje’ wordt op zijn plek gehouden door een nylon gaasje, wat het beschermd tegen contact, contaminatie en wrijving.
Het is een colorimetrische katalysator test waarvan de werking gebaseerd is op de peroxidase achtige activiteit van de hemoglobine. Door de hoge sensitiviteit, gebruiksvriendelijkheid en het vermogen om de structuur en morfologische integriteit van het bloedspoor/de bloedspat te behouden, wordt de Combur test veel ingezet in het forensisch onderzoek in andere landen. Ook wanneer een bloedspoor extreem verdund is, verouderd is of gecontamineerd is, is de Combur test in staat het bloed te detecteren. De test is daarnaast goedkoop, makkelijk mee te nemen naar de plaats delict en vraagt verder alleen om de aanwezigheid van gedestilleerd water om de strip mee te bevochtigen voor gebruik [23].

De Combur test kan vijf intacte rode bloedcellen per microliter detecteren of hemoglobine overeenkomend met 10 rode bloedcellen per microliter [43]. Wat een detectielimiet is van 0,15-0,3 µg/ml hemoglobine. Deze concentratie staat gelijk aan een verdunning van bloed van circa 1:500.000 [23].

Vitamine C heeft vrijwel geen effect op de test [43]. De Combur test is van origine een urinetest welke wordt gebruikt om bloed in te kunnen detecteren. Vitamine C wordt met regelmaat aangetroffen in urine. Het menselijk lichaam neemt vitamine C op, maar kan het niet opslaan omdat het oplosbaar is in water. Wanneer er een overmaat aan vitamine C wordt ingenomen, wordt dit uitgescheiden via de urine [44]. Het nylon gaasje is geïmpregneerd met jodaat om een reactie met vitamine C te voorkomen. Een ander voordeel wat dat met zich meebrengt is dat de reductor en het oxidatiemiddel niet loskomen en vermengen met de bloedvlek wanneer direct testen wordt toegepast. Zo kan men de direct test methode toepassen, wat de test efficiënter maakt, zonder dat men bang hoeft te zijn dat het de DNA-analyse negatief beïnvloed [23].

De Combur test is niet toxisch, er dient alleen beschermende kledij gedragen te worden ter preventie van contaminatie [45].
Zie tabel 1 voor het overzicht welke de vergelijking tussen de TB-test, de KM-test en de Combur tegen elkaar uitzet.

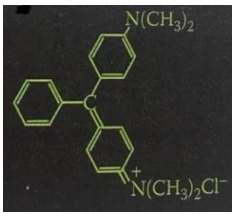


Afbeelding 5: een positieve reactie Combur test
waar de herkenbare groenblauwe verkleuring te zien is [23].

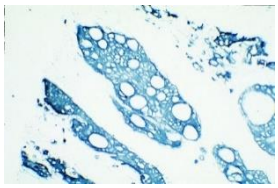
3.4.1.4 Tetramethylbenzidine

TMB (of 3,30 ,5,50 -tetramethylbenzidine) (zie afbeelding 6) [23] , wat het reagens is op de Combur test, is een derivaat van benzidine. Men kwam er achter dat deze methyl variant alleen nog meer carcinogeen is dan benzidine [2]. Toch is deze test nog een van de meest gebruikte testen in het forensisch onderzoek [23]. Een positief testresultaat is te herkennen aan de groenblauwe kleur (zie

afbeelding 7) [2]. Als geïmpregneerde stof in het padje van de Combur test, is TMB niet schadelijk voor de gezondheid [45].



Afbeelding 6: structuurformule TMB [2].



Afbeelding 7: een positieve reactie TMB waar de herkenbare blauwe kleur te zien is [46].

Tabel 1: de drie indicatieve testen tegen elkaar uitgezet op basis van eigenschappen welke zij wel of niet bezitten.

	Tetrabasetest	Kastle-Meyer test	Combur test
Toxiciteit	Ja	Ja	Nee
Methode	2-staps	2-staps	1-staps
Het onderscheppen van vals-positieve reacties	Ja	Ja	Nee
Specificiteit	Minder dan KM	Ja	Minder dan KM
Tijdsintensiviteit	Eén keer per maand een aantal uur de testen maken	Mogelijkheid tot kant-en-klaar kopen	Kant-en-klaar uit het doosje te gebruiken
Shelf life	Eén maand	Zes maanden	Half jaar vanaf openen
Extra benodigdheden	Filtreerpapiertje + demiwater	Swab + ethanol	Demiwater en eventueel een swab
Gevoeligheid	1:20.000	1:10.000	1:500.000
(Chemisch) afval	Ja	Ja	Nee
Bewaartemperatuur	Koel en droog	Koel en droog	Kamertemperatuur

3.4.2 Chemoluminescentie en fluorescentie

Er wordt gebruikt gemaakt van luminescentie bij latente bloedsporen. In dit geval is er een vermoeden dat er bijvoorbeeld weggewassen bloed aanwezig kan zijn [2]. Luminescentie helpt bij bloedspoorpatroon analyse (BPA) en kan informatie geven over de volgorde van gebeurtenissen op de plaats delict, door het laten zien van een hoeveelheid bloedverlies, de bewegingen van het slachtoffer, het wapen dat is gebruikt en waar is schoongemaakt [47]. De luminescentietechnieken werken volgens hetzelfde principe als de katalytische kleurtesten. Er wordt gebruik gemaakt van drie soorten technieken: luminol, fluoresceïne en lumiscene. Deze stoffen worden samen met een oxidatiemiddel toegevoegd aan een bloedspoor. De katalytische eigenschap van de heemgroep dient als katalysator waardoor de oxidatie van luminol, fluoresceïne of lumiscene ontstaat [2, 47].

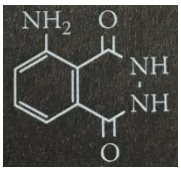
Luminol, lumiscene en fluoresceïne zijn net zoals de andere testen indicatieve testen. De testen worden gesprayd in de ruimte die volledig donker is gemaakt en wanneer zij reageren met een substantie, kleuren deze gebieden op. Het geobserveerde resultaat is een productie van licht welke het mogelijk maakt om de vorm van het spoor waar te nemen met daarmee het soort patroon/de soorten patronen. De methode van toepassing van deze testen maakt ze een mogelijke bron van contaminatie en hun gevoeligheid maakt dat zij veel vals-positieven kennen. De luminescentietechnieken worden hierom alleen gebruikt voor het opsporen en lokaliseren van bloedsporen en niet voor het identificeren. Luminescentietechnieken worden in de praktijk twee keer gesprayd, één keer om de sporen te vinden en te markeren en één keer om te fotograferen.

Overmatig sprayen veroorzaakt flowpatronen in het aangetroffen spoor, hiermee druipt het DNA weg of beschadigt het DNA, ook kent het patroon zijn oorspronkelijke morfologische kenmerken niet meer.
Hierna worden nog TB-testen uitgevoerd om vals-positieven te onderscheppen. De technieken maken de sporen bij de tweede keer sprayen beter zichtbaar en de TB-test werkt hierna ook, omdat het oxidatieproces in werking is gezet na de eerste keer aanbrengen van een luminescentietechniek. Hierdoor ontstaat er meer conversie. Er wordt gebruik gemaakt van waterstofperoxide als oxidator. Cellen die voor het luminescentieproces nog niet waren gelyseerd door de blootstelling aan zuurstof, zijn door de luminescentietechnieken wel gelyseerd [2, 12, 47].

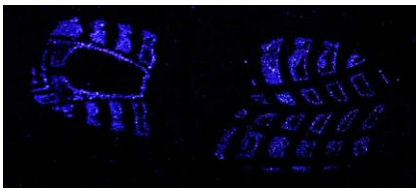
Chemoluminescentie en fluorescentie zijn twee verschillende processen welke zich voordoen door de chemische mechanismen van luminol en fluoresceïne. Chemoluminescentie is een proces waar licht wordt geëmitteerd als een product van een chemische reactie. Er is geen extern licht nodig voor deze reactie. De reactie die waarneembaar is bij luminol en lumiscene is chemoluminescentie.
Fluorescentie is een chemisch proces waar een chemische substantie is blootgesteld aan een bepaalde golflengte, meestal korte golflengtes, en waar lichtenergie wordt geëmitteerd op lange golflengtes. De reactie die waarneembaar is bij fluoresceïne is fluorescentie. Meestal wordt hier gebruik gemaakt van korte golflengtes om aan te stralen, zoals UV-licht tussen de 425 nm en 485 nm [2, 12, 47].

3.4.2.1 Luminol

Luminol (zie afbeelding 8) luminesceert na oxidatie in een zuur of alkaline oplossing. Verschillende oxidatiemiddelen kunnen de luminescentie veroorzaken in een alkaline oplossing. Dit is allemaal ontdekt in het begin van de 20ste eeuw [2, 48]. Met deze informatie werd het duidelijk dat luminol ingezet kon worden in het forensisch onderzoek met als toepassing het zichtbaar maken van latente bloedsporen [35]. Een blauwwit tot geelgroen licht is het resultaat op de locatie waar het bloed zich bevindt (zie afbeelding 9). De kleur van het licht wat ontstaat is afhankelijk van het reagens in de oplossing [2, 47].
Luminol wordt in een mengsel samen met een oxidatiemiddel in een oplosmiddel op waterbasis gesprayd over het spoor. Een spoor is vaak ongeveer enkele seconden tot een één minuut zichtbaar. Het grootste voordeel van luminol is de gevoeligheid. Over de exacte gevoeligheid van luminol wordt gediscussieerd. De luminol die in Nederland wordt gebruikt detecteert bloed tot een verdunning van 1:50.000, wat al ver boven de detectiegrens van genoeg witte bloedcellen voor een volledig DNA-profiel zit. Luminol is geclassificeerd als irriterende stof. Het is niet carcinogeen [2]. Luminol heeft geen effect op de hierop volgende indicatieve testen [26, 47].



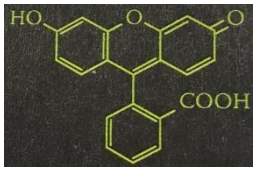
Afbeelding 8: structuurformule luminol [2].


Afbeelding 9: positieve reactie luminol [49].

3.4.2.2 Fluoresceïne

Dat fluoresceïne (zie afbeelding 10) bloed kon detecteren is ontdekt in 1910. Fluoresceïne wordt toegepast, net zoals bij luminol, wanneer er verwacht wordt dat er latente bloedsporen aanwezig zijn. Wanneer fluoresceïne wordt toegepast om bijvoorbeeld bloedspoorpatronen zichtbaar te maken, waar een enkele druppel bloed wel zichtbaar is, kan deze druppel het best worden afgedekt tegen de fluoresceïne. Op deze manier wordt het DNA niet beschadigd in de meest kansrijke druppel voor verdere analyse. Een groen licht is het resultaat van een reactie van fluoresceïne (zie afbeelding 11).

De voorbereiding van fluoresceïne lijkt op die van fenolftaleïne. Fluoresceïne wordt gereduceerd in alkaline oplossing door zink naar fluorescin, welke dan wordt gesprayd op het gebied waar men bloed vermoed aanwezig te zijn. De katalytische eigenschap van de heemgroep dient als katalysator samen met de peroxide van de fluorescin, waardoor fluoresceïne ontstaat. Omdat fluoresceïne berust op het principe van fluorescentie, is de reactie zichtbaar wanneer deze wordt aangestraald met een UV-lichtbron. Een vals-positieve reactie van luminol is bleek. Fluoresceïne reageert hier niet mee [2]. Fluoresceïne is vanwege de zink schadelijker voor het milieu en de gezondheid dan luminol.

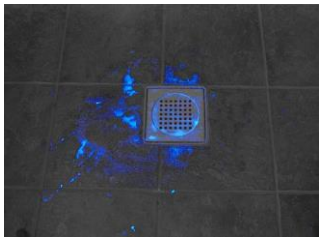


Afbeelding 10: structuurformule fluoresceïne [2].

Afbeelding 11: reactie van fluoresceïne [50].

3.4.2.3 Lumiscene

Lumiscene is een combinatie van luminol en fluoresceïne. Lumiscene werkt net zoals luminol op basis van chemoluminescentie. Het voordeel van lumiscene is dat het een blauwgroen licht uitstraalt in tegenstelling tot luminol, welke een blauw licht uitstraalt (zie afbeelding 12). Het menselijk oog is gevoeliger voor groen licht dan voor blauw licht. De intensiteit van het licht wat lumiscene uitzendt is hoger dan de intensiteit van het licht wat luminol uitzendt. De golflengte van het uitgezonden licht ligt rond de 525 nm. Deze eigenschappen van lumiscene zijn te danken aan de fluoresceïne. Het voordeel van lumiscene is dat er minder waterstofperoxide nodig is voor de reactie. Lumiscene wordt gemaakt op waterbasis en tegenover de 3% waterstofperoxide die in luminol en fluoresceïne zit, zit er ongeveer 0,12% waterstofperoxide in lumiscene. Dit maakt lumiscene een stuk minder schadelijk voor het DNA. Lumiscene hoeft niet aangestraald te worden met een lichtbron, net zoals luminol. De fluoresceïne maakt het echter wel mogelijk om achteraf nog het gesprayde gebied te beschijnen met een lichtbron, om te controleren of alles is meegenomen bij de bemonstering [27, 28].


Afbeelding 12: positieve reactie lumiscene [51].

4. Methodologie

4.1 Afbakening

Het onderzoek is in eerste instantie afgebakend door twee indicatieve testen mee te nemen, naast de TB-test. Dit zijn testen die veel worden gebruikt in Europa in het forensisch werkveld: de Combur test en de KM-test. Er is gekozen voor deze twee testen, omdat zij op papier respectievelijk gebruiksvriendelijker en selectiever lijken dan de TB-test. Uit het vergelijkend onderzoek zal blijken welke testen op welke aspecten beter presteren.
Bij het vergelijkend onderzoek is er naar een aantal prestatiekenmerken uit een standaard laboratorium protocol gekeken om bepaalde aspecten binnen deze prestatiekenmerken te vergelijken. De prestatiekenmerken zijn bepaald nadat de aspecten bepaald waren. Uit theoretisch onderzoek kwam informatie naar voren over de stabiliteit, de sensitiviteit en de specificiteit. Ook dat testen beter horen te reageren na luminol/lumiscene onderzoek en wanneer bloed zich langer buiten het lichaam bevindt. Deze aspecten zijn onderverdeeld onder passende prestatiekenmerken. Dat heeft geleid naar de volgende prestatiekenmerken:

- Herhaalbaarheid;
- Aantoonbaarheidsgrens;
- Robuustheid;
- Selectiviteit.

Er is geen volledige validatie van de testen uitgevoerd. Een validatie is pas nodig als blijkt dat een andere test op meer prestatiekenmerken beter presteert dan de TB-test en er mogelijkheid is tot overstappen van indicatieve test. Bij een volledige validatie worden alle prestatiekenmerken getest. Als afbakening is er ook een selectie gemaakt van substanties die een vals-positieve of vals-negatieve reactie kunnen geven en is er een selectie gemaakt van ondergronden welke mogelijk invloed kunnen hebben op de testen. Uit dit vergelijkend onderzoek zal blijken of de testen een goed alternatief zijn en potentie hebben tot vervanger van de TB-test. Het onderzoek is in eerste aanleg en wordt dus vereenvoudigd uitgevoerd.

Er is ook informatie verzameld om te weten te komen hoe een eventuele verandering in indicatieve test teweeg kan worden gebracht. Deze informatie is verkregen door middel van interviews en theoretisch onderzoek. De interviews zijn afgebakend door van te voren een vragenlijst voor de geïnterviewden klaar te hebben liggen, zodat de gesprekken gericht bleven tot het onderwerp en er efficiënt antwoorden konden worden verkregen. Er is dan ook de semigestructureerde interviewstijl toegepast.
Als uit de resultaten van het vergelijkend onderzoek en uit de informatie verkregen via interviews, blijkt dat er een eventuele verandering doorgebracht kan worden, is het aan de politie en aan het Nederlands Forensisch Instituut (NFI) om de gekozen test te valideren.

4.2 Het vergelijkend onderzoek

Er zijn drie soorten onderzoeken uitgevoerd. Naast de theoretische verdieping is er empirisch onderzoek uitgevoerd en zijn er interviews afgenomen.

De verkregen informatie moet het mogelijk maken om de TB-test, de KM-test en de Combur test met elkaar te vergelijken. In het vergelijkend onderzoek zijn verschillende aspecten met elkaar vergeleken. Naar deze aspecten is theoretisch onderzoek gedaan. Om de theorie te testen is er empirisch onderzoek uitgevoerd. Om aanvullende informatie te verkrijgen, maar ook om achter de opinie te komen van de respondenten over de indicatieve testen, zijn er interviews gehouden.
Deelonderzoeken 1 tot en met 8 zijn onderzocht door middel van empirisch onderzoek.
Deelonderzoeken 9 tot en met 11 zijn onderzocht door middel van het houden van interviews.

De volgende aspecten zijn in deelonderzoeken met elkaar vergeleken:

- Empirisch:
    1. Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen;
    2. Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen;
    3. Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen;
    4. Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed;
    5. Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling;
    6. Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen;
    7. Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven;
    8. Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene.
- Interviews:
    9. Deelonderzoek 9: de opinie van forensisch onderzoekers;
    10. Deelonderzoek 10: het kostenplaatje.

4.2.1 Empirisch onderzoek

De gebruikte indicatieve testen

- Er is in dit onderzoek gebruik gemaakt van de TB-test, welke is aangemaakt en is geleverd door de forensische opsporing (FO) in Nederland. De test is aangemaakt op 30-10-19.
- Er is in dit onderzoek gebruik gemaakt van de KM-test, welke is verkregen in de Phenolhtalein Blood Detection Kit. Deze kit is geproduceerd door IDenta Ltd in Israël. In deze kit bevinden zich twee flesjes ethanol, waar de swabs mee bevochtigd dienden te worden, ampullen met fenolftaleïne en ampullen met waterstofperoxide. Na het breken van de ampullen zijn de stoffen geactiveerd en zijn deze klaar voor gebruik. De gebruikte kit is houdbaar tot 10-21.
- Er is in dit onderzoek gebruik gemaakt van de Combur test, welke is aangeschaft in oktober 2019 en is geproduceerd op 08-04-19. De Combur test is houdbaar tot 30-09-20.

Het gebruikte bloed

In alle deelonderzoeken is er gewerkt met gecontroleerd runderbloed. De rund is een zoogdier en het bloed is vergelijkbaar met dat van de mens. Het gebruikte bloed heeft een vaste, maar onbekende hematocrietwaarde. Het bloed komt van één en dezelfde rund. De gemiddelde hematocrietwaarde van de rund ligt tussen de 0,21 en de 0,73 liter per liter [52]. De gemiddelde hematocrietwaarde van de mens ligt tussen de 0,36 en de 0,51 liter per liter [16]. In het bloed is 0,8% EDTA als antistollingsmiddel toegevoegd. Het bloed zat opgeslagen in plastic containers en is bewaard in de vriezer op -17°C. Er is gewerkt met volbloed, tenzij er verdunningen nodig waren. Er is gewerkt met verdunningen in deelonderzoeken 3, 7 en 8. Deze verdunningen worden nader toegelicht. Wanneer bloed is verdund, gebeurde dit met gedestilleerd water. Wanneer het bloed gebruikt diende te worden, werd het 24 uur van te voren uit de vriezer gehaald en in de koelkast gelegd tot het gebruikt werd voor onderzoek. De koelkast stond ingesteld op 3°C. Het afnemen van de indicatieve testen is binnen twee uur na het pipetteren uitgevoerd, behalve bij deelonderzoeken 4 en 8. Bij deze deelonderzoeken lag het bloed te drogen aan de lucht op kamertemperatuur onder laboratoriumomstandigheden.

Materiaal keuze

Gedurende het gehele onderzoek is er gebruik gemaakt van nitril handschoenen en zijn er mondkapjes gedragen om contaminatie te voorkomen. Alle deelonderzoeken zijn uitgevoerd in triplo. Er is gekozen om in triplo te werken, zodat er betrouwbaar antwoord gegeven kan worden op de vraagstukken. Als ondergrond is er bij alle deelonderzoeken gekozen voor glazen preparaatglaasjes. Er is gekozen voor deze ondergrond, omdat deze geen invloed heeft op het bloed of de indicatieve testen. De glaasjes die zijn gebruikt hebben allen drie uitsparingen, wat het werken

in triplo vereenvoudigd. De uitsparingen voorkomen contaminatie tussen het bloed onderling of de testen onderling.
Om de hoeveelheid bloed overal gelijk te houden, is er gewerkt met een digitale pipet en is er een hoeveelheid van 0,04 ml gepipetteerd in elke uitsparing van elk preparaatglaasje, in elk deelonderzoek. Er is gekozen voor deze hoeveelheid omdat 0,04 ml de standaardmaat is voor een druppel. Wanneer iemand niet in bezit is van bepaalde pipetten is het ondanks dat nog steeds reproduceerbaar en representatief voor de praktijk.

Positieve- en negatieve controles

Voorafgaand aan het testen zijn positieve- en negatieve controles meegenomen om uit te kunnen sluiten dat een foutieve werking van de testen verantwoordelijk kon zijn voor een positieve- of negatieve reactie. Positieve controles zijn uitgevoerd op volbloed en negatieve controles zijn uitgevoerd op gedestilleerd water. Bij de deelonderzoeken werd een reactie als positief beschouwd wanneer deze binnen 15 seconden op komt zetten. Deze tijd is nader bepaald. Dit was in alle gevallen wanneer een negatieve controle nog niet was verkleurd door spontane oxidatie. Een negatieve reactie werd als negatief beschouwd wanneer deze na 15 seconden nog niet verkleurde. De positieve controles gaven in alle gevallen direct een positieve reactie. Omdat er voornamelijk met volbloed is gewerkt, is een direct optredende positieve reactie ook verwacht. In de literatuur worden dit soort maatstaven gebruikt om de drempelwaarden te bepalen, er bestaat geen standaard tijd om te hanteren als drempelwaarde [23, 25, 26].

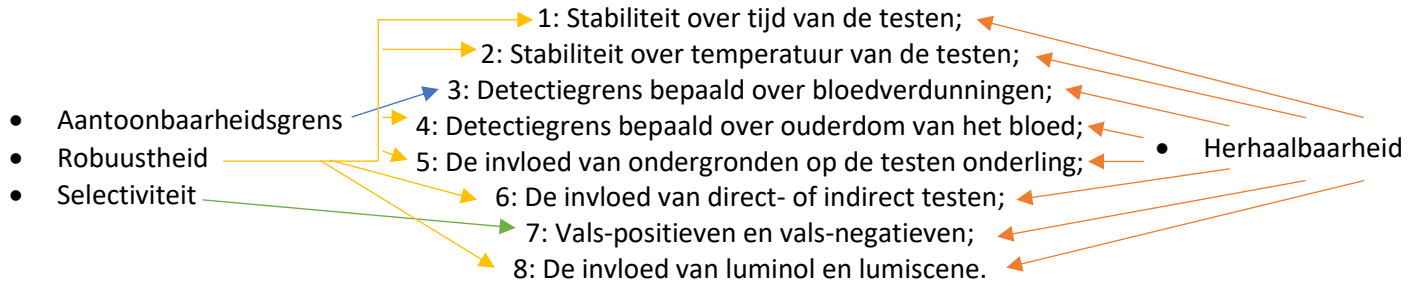
Direct- en indirect testen

Behalve bij deelonderzoek 6, zijn de TB-test en de KM-test uitgevoerd met de indirect test methode. De Combur test is overal direct getest. Dit houdt in dat er bij het testen van bloed met de TB-test en de KM-test swabs zijn gebruikt om bloed mee af te nemen en dat op deze swabs de indicatieve testen zijn toegepast. Er is gekozen voor FAB-Swabs met mini tips (puntige swabs) van katoen om de hoeveelheid bloedabsorptie te beperken om zo een voor het werkveld representatieve methode toe te passen. De Combur test is direct in contact gebracht met het bloed. Bij deelonderzoek 6 is er getest wat het verschil in resultaat is tussen de toepassingen van beide test methodes.
Direct- en indirect testen kan als verschil met zich meebrengen dat bij het opnemen van monster met een swab, de swab dit goed opneemt. De TB-test en de KM-test worden hierop gedruppeld. De TB-test en de KM-test worden opgenomen door de swab en dit geeft mogelijk een grotere kans op een kleurreactie dan de Combur test heeft. De Combur test is voor een korte tijd in aanraking met het monster. Omdat de Combur test wel in aanraking blijft met het opgenomen stuk monster, komt deze benadering het beste in de buurt bij een hoeveelheid monsteropname met een swab. Het monster trekt zo het padje in en door de capillaire werking zal de verkleuring duidelijk zichtbaar zijn. Er is gekozen om zo alle deelonderzoeken uit te voeren omdat het verschil tussen indirect testen met de TB-test en de KM-test en het direct testen met de Combur test, minimaal zal zijn. De inwerktijd tussen de testen onderling is hetzelfde. De absorptie werkt bij de Combur test alleen andersom, waar de test het monster absorbeert in plaats van het monster/de swab de test absorbeert.

Prestatiekenmerken

In de acht deelonderzoeken van het empirisch onderzoek zijn verschillende aspecten getest. De acht aspecten bij empirisch onderzoek zijn per indicatieve test vergeleken. Deze aspecten vallen te plaatsen onder de volgende vier verschillende prestatiekenmerken: herhaalbaarheid, aantoonbaarheidsgrens, robuustheid en selectiviteit.
Onder herhaalbaarheid vallen alle acht de aspecten, in elk deelonderzoek wordt dit meegenomen. Onder aantoonbaarheidsgrens valt aspect 3. Onder robuustheid vallen de aspecten 1, 2, 4, 5, 6 en 8. Onder selectiviteit valt aspect 7.

Figuur 1 geeft de acht deelonderzoeken weer die met pijlen aan hun prestatiekenmerk zijn verbonden.



Figuur 1: weergave van welke aspecten/deelonderzoeken vallen onder welk prestatiekenmerk.

Resultaatverwerking

De resultaten zijn waargenomen met het blote oog. Een reactie is geschaard onder 'positief' of 'negatief'. Wanneer er bij het triplo testen een 2/3 reactie zich voordeed, wat betekent dat twee van de drie reacties als positief beschouwd zijn, werd het geheel als positief beschouwd. Een 1/3 reactie, wat betekent dat één van de drie reacties als positief beschouwd zijn, werd het geheel als negatief beschouwd. Echter voor het testen van vals-positieven en vals-negatieven gold dit niet, gezien één of geen reactie de mogelijkheid weergeeft van het effect van een bepaalde substantie en dit ten alle tijden belangrijke informatie is.

Camera-instellingen

De instellingen variëren omdat er is gekozen om op het automatische programma te fotograferen, zie tabel 2. Wanneer het weer elke dag varieert en het licht wat binnen valt hierom elke dag kan variëren, kan de belichting op de foto elke dag anders zijn. Door te fotograferen op het automatische programma zouden de foto's allemaal ongeveer hetzelfde belicht worden door de variërende instellingen en het best te vergelijken zijn vanaf de foto. De externe belichting die is gebruikt is een studiolamp. Ter preventie van reflectie via de preparaatglaasjes, is er niet gefotografeerd met de flitser van de camera. Alle foto's zijn genomen met behulp van een statief.

Voor het fotograferen van luminol en lumiscene is er gebruik gemaakt van een Nikon camera in plaats van een Sony camera. Uiteindelijk is de chemoluminescentie niet vastgelegd, maar is er deze dag alsnog gebruik gemaakt van de Nikon camera.

De codering op de preparaatglaasjes is voor eigen administratie, de bijschriften verklaren deze coderingen.

Tabel 2: de camera-instellingen weergegeven op willekeurige volgorde voor alle acht de deelonderzoeken weergegeven.

Deelonderzoek	Camera	Stand	Diafragma	Sluitertijd	Brandpunt-afstand	ISO	Witbalans	Lichtbron
1	Sony DSC-RX10M3	A	F/2.8 F/3.2 F/3.5 F/4	1/125 1/160 1/200 1/250	24 mm, 30 mm, 32 mm, 39 mm, 43 mm	100 800	Auto	Extern
	Nikon D5100	A	F/8	1/60	27 mm	320 400	Auto	Extern
2	Sony DSC-RX10M3	A	F/4	1/320	24 mm	800	Auto	Extern

	Nikon D5100	A	F/5.6 F/8	1/60 1/125	27 mm	360 400	Auto	
3	Sony DSC-RX10M3	A	F/3.2 F/4	1/160 1/250 1/320 1/400	24 mm, 40 mm, 65 mm	100 800	Auto	Extern
4	Nikon D5100	A	F/5.6 F/8	1/60 1/125	27 mm	320 360 400	Auto	Extern
5	Sony DSC-RX10M3	A	F/2.8 F/3.2	1/160 1/200 1/250	24, mm, 26 mm, 29 mm, 34 mm, 39 mm, 40 mm	100	Auto	Extern
6	Sony DSC-RX10M3	A	F/3.2 F/3.5	1/100 1/160	40 mm, 77 mm	100	Auto	Extern
7	Sony DSC-RX10M3	A	F/3.2 F/3.5	1/80 1/100 1/125	37 mm, 39 mm, 77 mm, 91 mm, 100 mm	100 125 160	Auto	Extern
8	Nikon D5100	A	F/3.5 F/8	1/60 1/800 1/1000	27 mm	320 360 400 800	Auto	Extern

4.2.1.1 Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen

De TB-test wordt in Nederland één maand bewaard, hierna zou de test minder betrouwbaar worden. In dit deelonderzoek zijn de TB-test, de KM-test en de Combur test vergeleken op het aspect 'stabiliteit over tijd'. De KM-test en de Combur test hebben, zoals te lezen in de theorie in hoofdstuk 3, een "shelf life" van een halfjaar. Uit dezelfde lading test worden gedurende de maand houdbaarheid van de TB-test, testen afgenomen. Er is gekozen voor vier testdagen in een tijdsbestek van twee weken waarop de indicatieve testen worden toegepast. De ampullen van de KM-test zijn gebroken vanaf de eerste dag van dit onderzoek, zodat de test geactiveerd werd. Er is telkens gebruik gemaakt van vers volbloed. De testen zijn bewaard op de voor hen juiste wijze. Op deze manier kon worden uitgesloten dat mogelijke verschillen in resultaat zijn veroorzaakt door de conditie van het bloed of door de manier van bewaren van de indicatieve testen.

4.2.1.2 Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen

De TB-test hoort koel en donker bewaard te worden, anders zou de test minder betrouwbaar worden. In dit deelonderzoek zijn de TB-test, de KM-test en de Combur test vergeleken op het aspect 'stabiliteit over temperatuur'. Van de drie indicatieve testen is een deel op 3°C bewaard in de koelkast en een deel op kamertemperatuur bij 21°C. Er is getest hoe de indicatieve testen werken wanneer zij na één dag op temperatuur zijn gekomen. De ampullen van de KM-test zijn gebroken aan het begin van deze 24 uur, zodat de test geactiveerd werd.

4.2.1.3 Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen

De TB-test en de Combur test zijn sensitieve testen, van de KM-test is bekend dat deze over minder sensitiviteit bezit. De gekozen verdunningen zijn 1:50, 1:100, 1:500, 1:1000, 1:1500, 1:10.000, 1:20.000 en 1:50.000. Volgens de literatuur zou de Combur test nog in staat zijn bloed te kunnen detecteren in een verdunning van 1:500.000. Echter is er in de literatuur bekend dat luminol een detectiegrens heeft van 1:50.000. Er is hierom gekozen niet verder te verdunnen. Ook was de kans dat er bij zulke kleine hoeveelheden bloed toevallige kansen zijn dat er wel of geen rode bloedcel

werd gepipetteerd. De verdunning waar alle drie de indicatieve testen nog een duidelijke positieve reactie geven, wordt gekozen voor deelonderzoeken 7 en 8.

4.2.1.4 Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed

Er is bekend dat hoe ouder bloed is, hoe beter indicatieve testen werken. Dit is vanwege de conversie van de Fe2+ in de heemgroep. Er werd verwacht vanuit de literatuur dat de testen beter zouden werken naarmate de tijd vordert. De detectiegrens op verouderd bloed is getest op vers bloed, op bloed van vier dagen oud, op bloed van acht dagen oud, op bloed van twee weken oud en op bloed van drie weken oud. Dit is gedaan door volbloed te pipetteren op verschillende data. Wanneer het bloed werd gepipetteerd, was het net ontdooid uit de vriezer en is het vervolgens aan de lucht op kamertemperatuur onder laboratoriumomstandigheden gedroogd. Het uitvoeren van de indicatieve testen gebeurde op dezelfde dag voor alle verschillende oudheden, er is hierom gepland wanneer bloed moest worden gepipetteerd.

4.2.1.5 Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling

Er is getest of een ondergrond invloed heeft op de indicatieve testen. Er is gekozen voor een niet-poreuze ondergrond, de glazen preparaatglaasjes. Als poreuze ondergrond is er gekozen voor katoen. Het katoen dat gekozen is, is jersey katoen. Dit is een van de meest voorkomende soorten katoen [53]. Het katoen is minimaal acht keer gewassen. Als semi-poreuze ondergrond is er gekozen voor behang. Dit betrof nieuw behang. Glas, behang en katoen zijn veelvoorkomende materialen in huizen en zijn hierom gekozen als ondergronden.

4.2.1.6 Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen

Bij de andere deelonderzoeken is er gekozen om de TB-test en de KM-test indirect te testen met behulp van een swab. De Combur test is direct toegepast. Bij dit onderzoek zijn de TB-test en de KM-test toegepast met de direct test methode en de Combur test met de indirect test methode.

4.2.1.7 Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven

Het is bekend wat de grootste oorzaken zijn voor vals-positieve en vals-negatieve reacties. Bekende vals-positieven van de TB-test zijn chloor/bleek, jodium, peroxidases en geoxideerde metalen. Antioxidanten kunnen vals-negatieve reacties veroorzaken. Omdat de testen werken volgens hetzelfde principe (reactie met Fe), komen vals-positieven tussen de testen onderling redelijk overeen.

Tabel 3: de in onderzoek 7 gekozen substanties, welke mogelijk vals-positief of vals-negatief resultaat geven bij toepassing van de TB-test, de KM-test of de Combur test, waar de vakken zijn aankruist in de rij waar zij voor getest zijn.

	Tomaat	IJzeroxide	Broccoli	Groene thee	Framboos	Chocola	Blauwe bes	Vitamine C	Aardappel	Bleek
Vals-positief	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Vals-negatief	X	_	X	X	X	X	X	X	X	_

IJzeroxide en bleek zijn alleen meegenomen als vals-positieve. De andere substanties zijn voor beide getest (zie tabel 3). Hier is voor gekozen omdat een deel van de gekozen substanties, zowel antioxidanten als peroxidases bevat en er hierdoor kans bestond dat zij of een vals-positieve reactie konden geven of een vals-negatieve reactie konden geven.

De substanties zijn op de volgende manier klaargemaakt:

- Voor het klaarmaken van de substanties zijn tomaat, broccoli, framboos, blauwe bes en aardappel gepureerd.
- De gehele broccoli, zonder stam, is gebruikt. Er is één aardappel gebruikt. Bij broccoli en aardappel is 20 ml gedestilleerd water toegevoegd.
- Er is gekozen voor 78% pure chocola, er is 5 gram chocola gebruikt, deze is fijn gemaakt en hierbij is 5 ml gedestilleerd water toegevoegd.
- Er is gekozen voor vitamine C-1000 pillen van het merk Kruidvat. Deze vitamine C is niet gemengd met bijvoorbeeld ijzer. Er zijn 2 pillen fijngemaakt, welke elk 1000 mg vitamine C bevatten, en gemengd met 5 ml gedestilleerd water.
- De groene thee is gemaakt door een zakje groene thee van het merk Pickwick in kokend water te laten intrekken in een theekop voor 5 minuten.
- Er is gekozen voor vloeibare ijzeroxide. Deze ijzeroxide is gemengd met water. Er is een verhouding van respectievelijk 1 op 100 gebruikt.
- Er is gekozen voor pure bleek.

Een aantal van deze substanties was relatief dik. Pipetteren was hierdoor niet altijd mogelijk. De broccoli is hierdoor soms getest in zijn vruchtensap en soms aan zijn bloemen. Dit zou eventueel verschil in resultaat kunnen geven.

Voor de vals-positieve reacties is elke substantie getest in triplo op preparaatglaasjes. Er is een hoeveelheid van 0,04 ml gepipetteerd.
Voor de vals-negatieve reacties is elke substantie in combinatie met een bloedverdunning 1:1500 getest in triplo op preparaatglaasjes. Er is een hoeveelheid van 0,04 ml bloedverdunning gepipetteerd, waar een zelfde hoeveelheid van een substantie aan is toegevoegd.
Er is gekozen om eerst de bloedverdunning aan te brengen en hierna de mogelijk vals-negatieve substantie in plaats van de twee stoffen te mengen. Hiervoor is gekozen, omdat het mogelijk meer representatief is voor de praktijk, wanneer men bewust bloed proberen weg te wassen en niet-detecteerbaar proberen te maken.
De verdunning van 1:1500 is nader bepaald, vanwege de uitkomsten van deelonderzoek 3. Na het uitvoeren van deelonderzoek 3, bleken alle drie de indicatieve testen nog te reageren op bloed, welke in een verdunning van 1:1500 zat.

4.2.1.8 Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene

Uit de theorie blijkt dat luminol en lumiscene geen invloed hebben op indicatieve testen. In dit deelonderzoek is gewerkt met de verdunning 1:1500. De verdunningen zijn gepipetteerd en zijn hierna een week gedroogd aan de lucht op kamertemperatuur onder laboratoriumomstandigheden. De verdunningen zijn hierna getest met de drie indicatieve testen. Hierna werd 0,04 ml luminol gepipetteerd. Hierna zijn deze monsters weer getest met de indicatieve testen. Ditzelfde is ook uitgevoerd, maar dan met lumiscene. Het pipetteren van luminol en lumiscene is niet representatief voor de praktijk, hierbij wordt gesprayd. Echter gaf dit kans op contaminatie omdat de uitsparingen op de preparaatglaasjes hiervoor mogelijk te dichtbij elkaar zaten.
De verdunning van 1:1500 is nader bepaald, vanwege de uitkomsten van deelonderzoek 3. Na het uitvoeren van deelonderzoek 3, bleken alle drie de indicatieve testen nog te reageren op bloed, welke in een verdunning van 1:1500 zat. Zo wordt er gebruik gemaakt van een bloedverdunningen, waar de TB-test, de KM-test, de Combur test, maar ook luminol en lumiscene bloed in kunnen detecteren.

4.2.2 Interviews

Na het uitvoeren van het empirisch onderzoek hebben er interviews plaatsgevonden. De interviews zijn gehouden met mensen uit het werkveld in het binnen- en buitenland. Deze interviews zijn

gehouden met mensen die ervaring hebben met het gebruik van indicatieve testen. Men werkt bij de forensische opsporing van de politie, het NFI en in het buitenland vergelijkbare organisaties. Er is gekozen voor een semigestructureerde interviewstijl. Op deze manier bleven de interviews gericht, maar was er ook ruimte voor mogelijke, relevante, extra informatie en kon er doorgevraagd worden waar nodig. De interviews zijn opgenomen, hier is toestemming voor verleend.

Het doel van de interviews was achter de informatie komen, welke het empirisch gedeelte niet dekt. Er is gefocust op wat men hun opinie is over mogelijke veranderingen van indicatieve testen en wat zij denken wat nodig is voor zulke veranderingen. Daarnaast is er ingegaan op de gebruiksvriendelijkheid van de testen en de bijbehorende kosten.

Niet iedereen was bekend met de Combur test. Hierom is, zowel bij de FO als bij het NFI, de Combur test kort geïntroduceerd en gedemonstreerd om de respondenten een beeld te laten vormen van de test. Bij de interviews is er een uitleg gegeven over de Combur test en zijn de resultaten van het vergelijkend onderzoek kort weergegeven om het mogelijk te maken voor de respondenten dat zij zo relevant mogelijk vragen konden beantwoorden.

Er zijn in totaal vijf respondenten geïnterviewd uit de FO eenheden: twee uit FO Amsterdam, twee uit FO Krimpen aan den IJssel en één uit FO Drachten.
Er zijn in totaal zeven respondenten geïnterviewd van het NFI, allemaal van de divisie biologische sporen, verschillende teams en verschillende functies.
Er zijn in totaal twee respondenten geïnterviewd uit het buitenland, werkzaam bij vergelijkbare organisaties. Zij zijn werkzaam in Kroatië en Ierland.

4.2.2.1 Deelonderzoek 9: de opinie van forensisch onderzoekers

Tijdens het houden van een interview bij FO eenheid Amsterdam is informatie verkregen over de tijdsintensiviteit van het maken van de TB-test. Tijdens alle interviews is er informatie verkregen over de tijdsintensiviteit van het uitvoeren van de TB-test.
Tijdens het houden van de interviews is er informatie verkregen over de toxiciteit die komt kijken bij het maken van de TB-test en op de PD of in het laboratorium. Ook is er informatie verkregen over de gebruiksvriendelijkheid, de stabiliteit, de houdbaarheid en vals-positieve en vals-negatieve reacties.

4.2.2.2 Deelonderzoek 10: het kostenplaatje

Tijdens het houden van een interview bij FO eenheid Amsterdam is informatie verkregen over hoe veel TB-testen er worden afgenomen per maand, hoe veel geld dit kost, wie dit maakt en hoe lang dit duurt. Op deze manier kon er een begroting gemaakt worden van de kosten voor de TB-test en konden deze vergeleken worden met de kosten van de Combur test. Uit deze berekening zijn de kosten van de KM-test weggelaten. Hier is voor gekozen vanwege verkregen informatie uit interviews.

5. Resultaten en discussie

5.1 Vergelijkend onderzoek

5.1.1 Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen

In dit deelonderzoek is getest of de kwaliteit van de indicatieve testen achteruit gaat naarmate de tijd verstrekt. De KM-test en de Combur test zouden een “shelf life” moeten hebben van een half jaar. De TB-test zou een “shelf life” moeten hebben van één maand. Wat in dit onderzoek de KM-test lastig te vergelijken maakte met de TB-test en de Combur test is dat de KM-test één dag na het breken van de ampullen niet op de positieve controle reageerde, welke volbloed was. Er is hierom gekozen om de ampullen van de KM-test te breken voorafgaand aan het toepassen van de test. Bij het breken worden de ampullen geactiveerd. Uit een ampul komen gemiddeld 15 druppels, wat de test goed maakt voor 15 toepassingen.

De KM-test is ondanks bovenstaande toch meegenomen in dit deelonderzoek. De TB-test is verkregen op 30-10-19. De eerste testdag heeft plaatsgevonden op 13-11-19. De laatste testdag heeft plaatsgevonden op 26-11-19. Dit is vier dagen voor de uiterste datum. Wat verwacht werd vanuit de literatuur, is dat de KM-test en de Combur test goed zouden presteren op 26-11-19 en dat de werking van de TB-test afgenomen kón zijn.

Wat blijkt uit dit deelonderzoek is dat op elk van de vier testdagen alle drie de testen goed presteerden. De maand “shelf life” van de TB-test is hoogstwaarschijnlijk een tijdspanne waarin de test verwacht wordt nog goed te presteren. De afname van de werking van de test is misschien een aantal maanden later. Wat zou kunnen gebeuren is dat wanneer positieve controles uitgevoerd worden op reeksen verdunningen in plaats van volbloed, na de houdbaarheidsdatum van de TB-tests, de afname van de werking van de TB-test meer aan het licht komt (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 1 tot en met 12).

5.1.2 Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen

In dit deelonderzoek is getest of de indicatieve testen stabiel bleven over temperatuur. De juiste bewaarmethode voor de TB-test is in een donkere, koude ruimte. De juiste bewaarmethode voor de ampullen van de KM-test is onaangebroken en op kamertemperatuur. De juiste bewaarmethode voor de Combur test is op kamertemperatuur. Wanneer de testen op een andere temperatuur bewaard worden, zou dit invloed kunnen hebben op hun werking.

De testen zijn minstens 24 uur bewaard op 3 °C of op kamertemperatuur om op temperatuur gekomen. Er is geen verschil waarneembaar in intensiteit tussen de TB-test en de Combur test, wanneer deze zijn bewaard op 3 °C. Er is ook geen verschil waarneembaar in intensiteit tussen de TB-test en de Combur test wanneer zij zijn bewaard op kamertemperatuur. De intensiteit van de KM-test ligt in dit deelonderzoek lager dan de andere twee testen, dit is waar te nemen aan de verkleuring. Echter is dit op beide temperaturen zo en is er geen verschil waar te nemen in de intensiteit tussen deze temperaturen voor de KM-test. Ook voor de TB-test en de Combur maakt het verschil in temperatuur geen verschil in intensiteit (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 13 tot en met 18).

De mindere intensiteit van de KM-test kan ook liggen aan dat er minder bloed is opgenomen door de swab en er hierom minder materiaal is wat kan reageren met de test. Het geteste bloed was in dit deelonderzoek al opgedroogd ten tijden van het testen en speelt hierin waarschijnlijk een rol.

5.1.3 Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen

In dit deelonderzoek is onderzocht waar de detectiegrens van de testen liggen over bloedverdunningen. Er zijn verdunningen gemaakt van bloed met gedestilleerd water. De

verdunningen zijn zoals hieronder aangegeven gekoppeld aan een letter (zie tabel 4). Deze letters zijn terug te zien op de preparaatglaasjes (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 19 tot en met 45).

Tabel 4: de letters welke zijn terug te vinden op de preparaatglaasjes in bijlage 9.3 in afbeeldingen 19 tot en met 45, responderend aan de verdunningen.

Letter	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Verdunning	1:50	1:100	1:1500	1:1000	1:1500	1:10.000	1:15.000	1:20.000	1:50.000

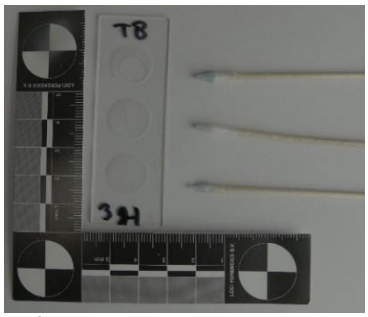
Zoals te lezen in de theorie in hoofdstuk 3, zou de KM-test het minst gevoelig zijn en de Combur test het gevoeligst. De TB-test zou bloed in een verdunningen moeten kunnen detecteren van 1:20.000, de KM-test 1:10.000 en de Combur test 1:500.000.

De TB-test kleurt bij verdunning A en B blauw, met een hoge intensiteit. Bij verdunningen C, D en E is de kleurreactie duidelijk zichtbaar, maar neemt de intensiteit af waarmee de verkleuring lichtblauw wordt. Verdunning F en G reageren met de TB-test, de verkleuring is zeer licht, maar niet discutabel. De TB-test reageert met verdunning H, maar de intensiteit van de kleur is zo licht dat er eventueel onduidelijkheden over de werking zouden kunnen zijn, zie afbeelding 13. De TB-test reageert niet met verdunning I. Dit betekent dat de detectiegrens ergens tussen de 1:20.000 en 1:50.000 ligt (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 37 tot en met 45).

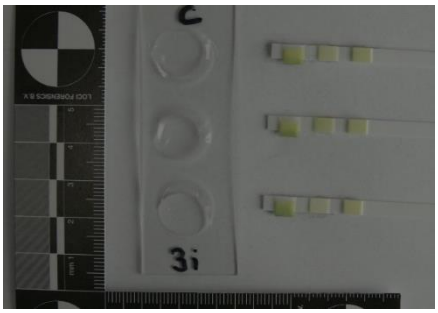
Wat een voordeel is van de Combur test is dat deze een verkleuring geeft tussen donkerblauw en lichtgroen. Bij volbloed kleurt de test donkerblauw en bij verdunningen waarin de test nog net aan bloed kan detecteren, kleurt de test lichtgroen.
De Combur test kleurt bij verdunningen A tot en met E donkerblauw. Bij verdunningen F, G en H kleurt de test groenblauw. Bij verdunning I kleurt de test zeer lichtgroen, zie afbeelding 14. De verkleuring is nog zichtbaar en hiermee kan de Combur test bloed in een verdunning van 1:50.000 detecteren (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 19 tot en met 27).

De KM-test is bij verdunning A niet zo intens als het bij volbloed kan reageren bij bijvoorbeeld deelonderzoek 1 (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 6, 9 en 12). Verdunning A en B geven een duidelijke, roze verkleuring. De verkleuring bij verdunning C is minder intens, maar niet discutabel. De verkleuringen bij verdunning D en E zijn zeer lichtroze, maar duidelijk waar te nemen, zie afbeelding 15. Vanaf verdunning F treedt er geen verkleuring meer op. De detectiegrens van de KM-test ligt ergens tussen de 1:1500 en 1:10.000 (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 28 tot en met 36).

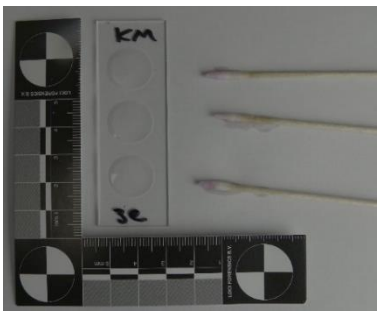
De resultaten komen redelijk overeen met de verwachtingen vanuit de theorie. Er is geen verdunning gemaakt van 1:500.000, maar de Combur test reageerde nog met 1:50.000. De TB-test reageerde nog bij een verdunning van 1:20.000. De KM-test reageerde niet met een verdunning van 1:10.000, maar de detectiegrens zou hier vlak onder kunnen liggen.



Afbeelding 13: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:20.000, waar de TB-test nog reageert



Afbeelding 14: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:50.000, waar de Combur test nog reageert



Afbeelding 15: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, waar de KM-test nog reageert

5.1.4 Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed

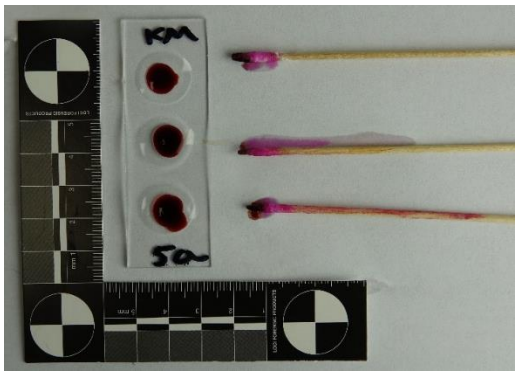
In dit deelonderzoek is bepaald of, zoals de theorie aangeeft, testen beter zouden moeten werken bij bloed wat zich langer buiten het lichaam begeeft.

Bij het bloed wat drie weken aan de lucht is gedroogd geven de TB-test en Combur test een intense verkleuring (fotobijlage 9.3, afbeelding 46 en 47). De KM-test geeft een intense verkleuring bij twee van de drie geteste monsters (fotobijlage 9.3, afbeelding 48). Bij bloed wat twee weken aan de lucht is gedroogd geven alle drie de indicatieve testen een intense en duidelijke verkleuring (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 49 – 51).
Bij bloed wat acht dagen aan de lucht is gedroogd geven alle drie de indicatieve testen een intense en duidelijke verkleuring (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 52 – 54).
Echter wat is waar te nemen bij de KM-test is dat bij het opgedroogde bloed dat drie weken, twee weken en acht dagen is gedroogd, het oppervlak van de swab minder kleurt dan bij vloeibaar bloed (48, 51, 54). Dit is te verklaren doordat er minder bloed wordt geabsorbeerd door de swab bij het opgedroogde bloed.
Bij bloed wat vier dagen aan de lucht is gedroogd geven alle drie de testen een intense en duidelijke verkleuring (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 55 – 57).
Bij vers bloed geven alle drie de testen een intense en duidelijke verkleuring (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 58 – 60).

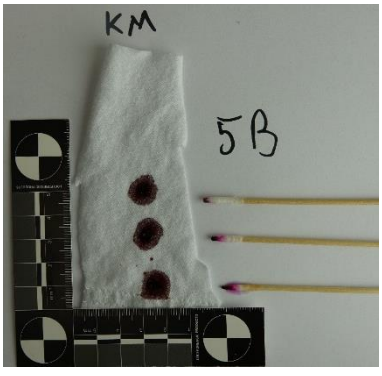
De kleurintensiteit is niet heftiger bij ouder bloed dan bij vers en nog vloeibaar bloed. Wel kleurt het oppervlak van de swab minder mee, wat zeer waarschijnlijk wordt veroorzaakt door het opgedroogde bloed wat gaat “flaken” in plaats van dat een groot deel van het bloed wordt geabsorbeerd door de swab. Ongeacht of er sprake is van vers bloed of vier weken oud bloed, dit brengt geen verandering in intensiteit van kleurverandering (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 46 tot en met 60).

5.1.5 Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling

In dit deelonderzoek wordt onderzocht of er verschil is in intensiteit tussen de testen onderling wanneer er andere ondergronden worden gebruikt. Zoals te lezen in de theorie in hoofdstuk 3, kan bijvoorbeeld te KM-test minder sensitief worden wanneer verdunningen van bloed zich op poreuze ondergronden bevinden. Er is hier gebruik gemaakt van volbloed om de variabelen beperkt te houden.

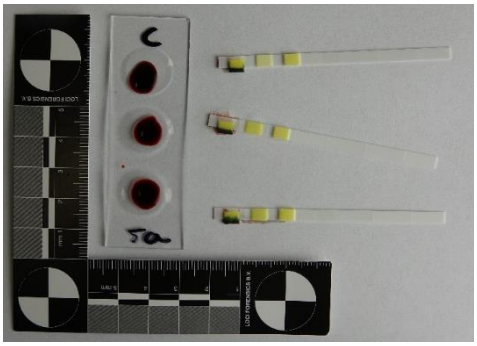


Afbeelding 16: volbloed getest op niet-poreuze ondergrond met de KM-test, waarbij zichtbaar is dat er meer bloed wordt opgenomen door de swab.

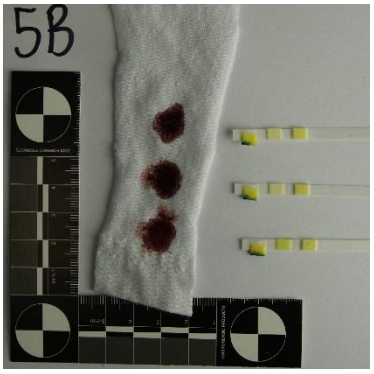


Afbeelding 17: volbloed getest op poreuze ondergrond met de KM-test, waarbij zichtbaar is dat er minder bloed wordt opgenomen.

Wat duidelijk zichtbaar is, is dat wanneer een ondergrond poreus is, er absorptie van het bloed plaats vindt door de ondergrond. Dit resulteert in dat er minder monster wordt opgenomen door de swab of het padje van de Combur test. Hierdoor zijn de TB-test en de KM-test minder intens. De verkleuringen van de Combur testen zijn onderling net zo intens, ongeacht de ondergrond of de hoeveelheid van het monster. Wel wordt bij een poreuze ondergrond minder monster opgenomen door het padje, waardoor de verkleuring van het oppervlak van het padje kleiner is, zie afbeeldingen 16 tot en met en 19 (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 64 – 66). De Combur test wordt alleen lichter bij verdund bloed. Ondanks dat als er een kleine hoeveelheid monster wordt opgenomen, zal door de capillaire werking de verkleuring goed waarneembaar zijn omdat het oppervlak van het padje dat verkleurt, groter wordt. Op de semi-poreuze en niet-poreuze ondergronden waren ze alle drie net zo intens (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 61 – 63, 67 – 69). Dit is te verklaren doordat het bloed op de semi-poreuze ondergrond nog niet was geabsorbeerd en opgedroogd. Wanneer dit wel het geval was geweest, waren uitkomsten mogelijk anders geweest.



Afbeelding 18: volbloed getest op niet-poreuze ondergrond met de Combur test, waarbij zichtbaar is dat er meer bloed wordt opgenomen door het padje.



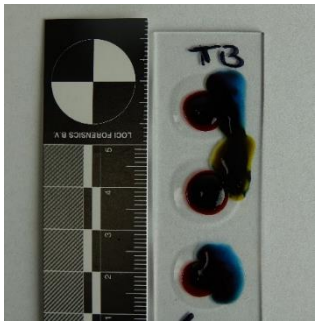
Afbeelding 19: volbloed getest op poreuze ondergrond met de Combur test, waarbij zichtbaar is dat er minder bloed wordt opgenomen door het padje.

5.1.6 Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen

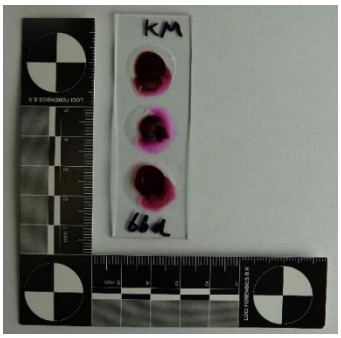
In dit deelonderzoek is er getest of direct- of indirect testen verschil geeft in de werking van de indicatieve testen. In de praktijk wordt bij de TB-test en bij de KM-test de indirect test methode toegepast. Dit gebeurt in verband met contaminatie met het spoor, welke ook de morfologische kenmerken van het spoor kan wegnemen en daarnaast de destructiviteit voor het DNA. De Combur test is niet destructief voor het DNA en neemt bij direct toepassen ook niet de morfologische kenmerken van het spoor weg. Wanneer een spoor is opgedroogd, zoals in deelonderzoek 2, kunnen sporen wel “flaken” of het monster breekt (fotobijlage 9.3, afbeelding 15). Echter kan dit ook gebeuren met een swab of filtreerpapiertje. Bij het indirect testen wordt er met een swab een monster van het spoor afgenomen en is het materiaal wat kan gaan reageren met een indicatieve test, van mindere hoeveelheid, dan bij direct testen. De KM-test kan minder sensitief worden bij indirect testen. Er is in dit deelonderzoek geen gebruik gemaakt van verdunningen om de sensitiviteit te testen bij direct- en indirect testen. Er is gebruik gemaakt van volbloed om variabelen te beperken. Bij direct- of indirect testen bij de Combur test is een kleinere hoeveelheid monster geabsorbeerd door de swab bij indirect testen dan door het padje bij direct testen (fotobijlage 9.3, afbeelding 70 en 71).

Bij de Combur test vormt dit geen probleem omdat door de capillaire werking het oppervlak dat verkleurt groter wordt met de seconde. Wellicht wanneer er zodanig weinig monster aanwezig is om te testen, dat het een probleem kan vormen voor de Combur test om eerst met een swab monster weg te nemen van een plaats delict en hierna deze hoeveelheid aan te stippen met de Combur test. In het geval van minimale hoeveelheden zou dit mogelijk lastiger kunnen zijn met de Combur test

dan met de TB-test of de KM-test. Deze testen hebben de tijd om in de swab te trekken in plaats van andersom, waarbij het monster in het padje moet trekken. De inwerktijd staat gelijk aan elkaar, maar de hoeveelheid monster dat kan reageren met de test, zal hierdoor kunnen verschillen. Bij direct testen met de TB-test heeft er contaminatie plaatsgevonden (fotobijlage 9.3, afbeelding 73 en 74). Echter zijn de oorspronkelijke verkleuringen en het verschil hierin nog goed waar te nemen. Het middelste monster heeft een gele verkleuring gegeven aan de TB-test, terwijl het onderste en het bovenste monster een normale blauwe verkleuring gaven, zie afbeelding 20.
Wanneer barium zich nog in poedervorm bevindt, reageert het heftig met zuurstof en water. Barium oxideert snel wanneer de luchtvochtigheid hoog is. Wanneer barium wordt blootgesteld aan lucht zal zijn zilverwitte kleur veranderen in een zilvergelige kleur [54].
Wat kan zijn gebeurd is dat de bariumperoxide in dit monster meer met de lucht reageerde, dan met het bloed. Het is een verkleuring die niet snel verwacht wordt, het is immers in dit onderzoek verder niet voorgekomen. Echter is het doel van dit deelonderzoek om er achter te komen of er voorkeur moet zijn voor direct- of indirect testen. In dit deelonderzoek is er gewerkt met vloeibaar bloed, wat als gevolg heeft dat de morfologische kenmerken van de monsters veranderen. Hoe het bloed er oorspronkelijk uitzag, is niet duidelijk meer. Indirect testen heeft hierom de voorkeur (fotobijlage 9.3, afbeelding 72).



Afbeelding 20: close-up van afbeelding 73 uit bijlage 9.3, waarbij te zien is dat het middelste monster de TB-test geel is gekleurd. Er is hier vers volbloed met de TB-test getest met de direct test methode.



Afbeelding 21: vers volbloed met de KM-test getest met de direct test methode, waarbij te zien is dat de roze KM-verkleuring bij twee monsters donker roze is geworden door vermenging met het bloed.

Ditzelfde geldt voor de KM-test, de roze verkleuringen bij direct testen, zijn niet dezelfde kleur roze bij alle drie de monsters. Het onderste en bovenste monster zijn vermengd met bloed en dit geeft een donkerdere kleur roze, zie afbeelding 21. Indirect testen heeft hierom voorkeur (fotobijlage 9.3, afbeelding 75 en 76).
Naast het niet meer behouden van de morfologische kenmerken is de destructiviteit van de testen voor het DNA een nadelig effect.

5.1.7 Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven

Tabel 5: de vals-positief gekozen substanties uitgezet tegenover de indicatieve testen waarin is aangegeven dat zij reageerden met getallen, waar 3/3 betekent dat er drie keer van de triplo geteste monsters heeft geregeerd. GR is de afkorting voor geen resultaat, wat inhoudt dat hier geen reactie heeft plaatsgevonden met de indicatieve test.

	Tomaat	IJzeroxide	Broccoli	Groene thee	Framboos	Chocola	Blauw bes	Vitamine C	Aardappel	Bleek
TB	GR	GR	3/3	GR	GR	GR	GR	GR	GR	3/3
KM	GR	GR	GR	GR	3/3	GR	3/3	GR	GR	GR
Combur	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	3/3

Tabel 6: de vals-negatief gekozen substanties uitgezet tegenover de indicatieve testen waarin aangegeven dat zij reageerden met getallen, waar 1/3 betekent dat er één van de drie keer van de triplo geteste monsters heeft gereageerd, 2/3 betekent twee van de drie monsters en 3/3 betekent drie van de drie monsters. GR is de afkorting voor geen resultaat, wat inhoudt dat hier geen reactie heeft plaatsgevonden met de indicatieve test.

	Tomaat	Broccoli	Groene thee	Framboos	Chocola	Blauw bes	Vitamine C	Aardappel
TB	1/3	3/3	GR	GR	GR	GR	GR	3/3
KM	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR
Combur	1/3	GR	1/3	2/3	3/3	2/3	GR	3/3

In het gebruikte runderbloed zat 0,8% EDTA. EDTA kan vals-positieve reacties laten afnemen en vals-negatieve reacties bevorderen. Dit betekent dat wanneer er een vals-positieve reactie opdoet, deze zonder EDTA ook had gereageerd. Dit betekent ook dat substanties die niet vals-positief hebben gereageerd, anders wellicht vals-positief hadden kunnen reageren. Er is een kans dat vals-negatieve reacties zonder EDTA niet hadden plaatsgevonden. Substanties die niet vals-positief hebben gereageerd, hadden dit zonder EDTA ook niet.

Wat echter bekend is, is dat de TB-test vals-positief kan reageren met geoxideerde metalen en chloor. De Combur test kan vals-negatief reageren met vitamine C. De KM-test kan vals-positief reageren met aardappel, plantaardige peroxidases en chemische oxidatiemiddelen, maar niet met chloor.

Afbeelding 22: broccoli getest als vals-positief reagerende substantie waarbij de TB-test een drie keer een vals-positief resultaat geeft.

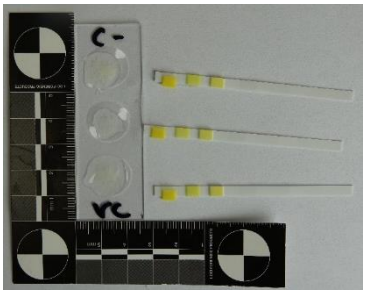
Afbeelding 23: broccoli met een bloedverdunning van 1:1500 getest als vals-negatief reagerende substantie, waarbij de TB-test een discutabele reactie geeft.

Op basis van deze informatie zijn de testen onderzocht op vals-positieve reacties door toepassing van de verschillende substanties uit tabel 5 en op vals-negatieve reacties door toepassing van verschillende substanties uit tabel 6.
Voor de substanties uit tabel 5 geldt: veel plantmaterialen zitten vol met peroxidases en chocolade bevat ook peroxidases. Bleek en ijzeroxide zijn meegenomen wegens hun al bekende vermogen om de TB-test vals-positief te laten reageren. Veel van deze substanties zijn ook getest op hun vermogen om een vals-negatieve reactie te laten plaatsvinden. Plantmateriaal zit ook vol met antioxidanten. Ascorbinezuur kan vals-negatieve reacties bevorderen, vanwege zijn sterke antioxiderende eigenschap.
De TB-test reageert vals-positief met broccoli en met bleek. Deze reacties waren te herkennen aan dat zij al een blauwe verkleuring kregen na het opbrengen van alleen de tetrabase oplossing en bij broccoli dat het slechts een blauw stipje was dat blauw kleurde. De reactie met broccoli kan te wijten zijn aan de peroxidases (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 95 tot en met 104).
De TB-test reageert bij de vals-negatieven ook op broccoli. Dit kan betekenen dat de TB-test óf het bloed detecteert óf het een vals-positieve reactie is op de broccoli. Weer kleuren hier slechts stipjes, wat een indicatie is voor een vals-positief resultaat en kwam deze reactie opzetten na de eerste stap, zie afbeelding 22 en 23. De test reageert bij één van de drie monsters door tomaat heen op het bloed. Tomaat kan hierbij dus een vals-negatief reagerende substantie zijn. De TB-test reageert door

aardappel heen op bloed (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 105 tot en met 112). De rest van de geteste substanties in tabel 6 kunnen mogelijk vals-negatieven opleveren bij de TB-test.

Zoals de theorie in hoofdstuk 3 beschrijft zijn vals-positieve reacties bij de KM-test vaak andere kleurreacties dan roze. Deze reacties zijn opgetreden bij framboos en blauwe bes, zie afbeelding 24. Dit zijn dan de enige vals-positieven van de KM-test. Deze traden ook op na het aanbrengen van de eerste stap fenolftaleïne. De KM-test reageerde niet vals-positief op aardappel, zoals in de theorie wel te lezen is (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 113 tot en met 122).
Bij de vals-negatieven is dezelfde reactie waar te nemen bij framboos en blauwe bes, waardoor dit geïnterpreteerd wordt als vals-positief resultaat en niet als positief resultaat op de bloedverdunning. Alle geteste substanties misleiden de KM-test, waardoor de test nergens het bloed detecteert (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 123 tot en met 130). Wellicht heeft dit te maken met de sensitiviteit van de test, wanneer de verdunning nog vermengd wordt met andere substanties, dat de KM-test niet gevoelig genoeg meer is om bloed te kunnen detecteren in deze verdunning.

Afbeelding 24: blauwe bes getest als vals-positief reagerende substantie, waarbij de KM-test drie keer een vals-positief resultaat geeft in de vorm van een blauwgrijze verkleuring.



Afbeelding 25: vitamine C met een bloedverdunning van 1:1500 getest als vals-negatief reagerende substantie, waarbij de Combur test een vals-negatieve reactie geeft.

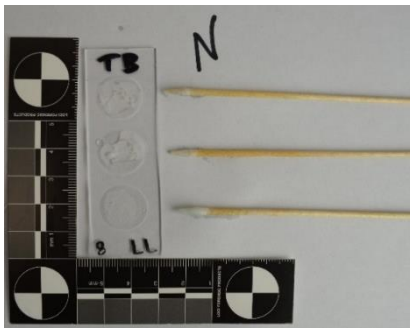
De Combur test reageerde vals-positief op bleek (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 77 tot en met 86). De Combur test liet zich minder misleiden dan de TB-test en de KM-test door vals-negatief reagerende substanties. De Combur test kleurde lichtgroen bij broccoli. Het is lastig te zeggen of deze verkleuring broccoli is of de lichtgroene verkleuring van de swab is door een reactie met hemoglobine. Tegen verwachtingen in vanuit de literatuur, heeft de Combur test niet op het bloed gereageerd door het vitamine C heen, zie afbeelding 25 (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 87 tot en met 94). Het gaasje waar het padje in zit, is gedoopt in jodaat wat een reactie met vitamine C zou moeten voorkomen. Wellicht ligt de concentratie vitamine C in dit deelonderzoek hoger dan de concentraties welke over het algemeen worden uitgescheiden in urine. Een andere verklaring hiervoor is de toevoeging van EDTA of een combinatie van EDTA en de concentratie vitamine C.

5.1.8 Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene

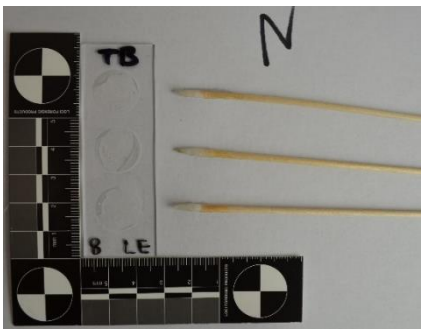
In dit deelonderzoek is onderzocht of de testen nog juist werken wanneer bloed is gecontamineerd met luminol of lumiscene. Zoals te lezen in de theorie in hoofdstuk 3, zouden de testen minstens net zo goed moeten werken na het toevoegen van luminol en lumiscene. De TB-test reageert niet na zowel luminol als lumiscene, zie afbeelding 26 en 27 (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 135 tot en met 138). Dit is zeer waarschijnlijk te wijten aan dat de verhouding van bloed en de luminescentietechnieken 1:1 is. Er is niet gesprayd. Er is op de hoeveelheid bloedverdunning, een even grote hoeveelheid luminol en lumiscene gepipetteerd.

De KM-test reageert zoals verwacht vanuit de literatuur, net zo goed voor de toevoeging van luminol als na de toevoeging van luminol. Ditzelfde geldt voor de toevoeging van lumiscene (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 139 tot en met 142).

Wat waar te nemen is bij de Combur test is dat luminol en de lumiscene het bloed hebben verdund en er treedt een lichtere verkleuring op. Voor het aanbrengen van de luminescentietechnieken was het bloed gedroogd en zijn hierop de eerste testen afgenomen. Er is een kleinere hoeveelheid monster opgenomen, wat waar te nemen is aan het oppervlak dat verkleurt (fotobijlage 9.3, afbeeldingen 131 tot en met 134).



Afbeelding 26: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, waarna 0,04 ml luminol is gepipetteerd en hierna getest met de TB-test, welke een negatieve reactie geeft.



Afbeelding 27: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, waarna 0,04 ml lumiscene is gepipetteerd en hierna getest met de TB-test, welke een negatieve reactie geeft.

5.2 Interviews

5.2.1 Deelonderzoek 9: de opinie van forensisch onderzoekers

5.2.1.1 Opinie forensisch onderzoekers in het buitenland

Op 11 en 13 september 2019 zijn er twee interviews uitgevoerd, met twee respondenten respectievelijk uit Kroatië en uit Ierland. In Kroatië wordt er gebruik gemaakt van de Combur 3 E test in het forensisch onderzoek en in Ierland wordt er gebruik gemaakt van de KM-test.

- De respondent uit Kroatië werkt bij het Forensic Science Centre “Ivan Vučetić, wat onderdeel is van de General Police Directorate, horende bij het Ministery of the Interior. De respondent is forensisch DNA-expert. In Kroatië wordt er gewerkt met de Combur 3 E test.
- De respondent uit Ierland werkt voor Forensic Science Ireland, een laboratorium welke verbonden is met het Department of Justice and Equality. De respondent is forensisch DNA-expert. In Ierland wordt er gewerkt met de KM-test.

Interpretatie Interviews forensisch onderzoekers in het buitenland

Beide respondenten zijn tevreden over de indicatieve testen die worden gebruikt in het land waar zij werkzaam zijn. Zij stellen dezelfde eisen aan een test, welke een goede indicatieve test maken. Sensitiviteit, gebruiksvriendelijkheid en stabiliteit staan hoog in het vaandel. De werknemer uit Kroatië vindt het verder belangrijk dat een test weinig vals-positief reagerende substanties kent en de werknemer uit Ierland vindt het verder belangrijk dat resultaten reproduceerbaar zijn, een test niet toxisch of zo min mogelijk toxisch is en het liefst een 1-stapsmethode betreft. Ze ondervinden beiden geen problemen met de toxiciteit bij de testen die zij zelf gebruiken. Ook niet de respondent uit Ierland, omdat de KM-test daar wordt ingekocht en zij hierdoor niet met de middelen zitten welke uit oplossing nog erg toxisch zijn. Zoals bekend zijn er bij de KM-test geen voorkomende vals-positief reagerende substanties. Over de stabiliteit van de testen zijn ook geen problemen bekend (zie bijlage 9.1, tabel 7).

Wanneer er gekeken wordt naar sensitiviteit blijken uit de resultaten van het empirisch onderzoek dat er het beste gekozen kan worden voor de Combur test. Wanneer er naar gebruiksvriendelijkheid gekeken wordt kan er het beste gekozen worden voor een zo minst mogelijk toxische test, welke makkelijk in gebruik is, stabiel is en welke een 1-stapsmethode heeft. In dit geval komt de Combur

test het beste uit het empirisch onderzoek. Het nadeel van de Combur test, is dat deze juist een 1-stapsmethode heeft. Qua gebruiksvriendelijkheid werkt dit prettig, maar het onderschept hierdoor geen vals-positieven zoals de TB-test dit doet. De verkleuring van de Combur test zal altijd lichtgroen tot donkerblauw zijn. De KM-test bestaat uit een 2-stapsmethode en kan ook na de eerste stap een verkleuring krijgen, welke dan ook vaak blauwgrijs is en hierbij goed helpt de weinige vals-positief reagerende substanties te onderscheppen.

5.2.1.2 Opinie forensisch onderzoekers in Nederland

Er zijn in totaal zeven respondenten geïnterviewd van het NFI, allemaal werkzaam bij de divisie biologische sporen, maar verschillende teams en verschillende functies.
Er zijn in totaal vijf respondenten geïnterviewd werkzaam bij de FO eenheden: twee uit FO Amsterdam, twee uit FO Krimpen aan den IJssel (dit interview betrof dan ook een duo-interview) en één uit FO drachten.

Respondenten Nederlands Forensisch Instituut:

- *Respondent 1 tot en met 4 en respondent 7:* vijf respondenten van het NFI zitten in team sporenonderzoek en zijn onderzoeksmedewerkers
- *Respondent 5:* één respondent van het NFI zit in team sporenonderzoek en is Senior Forensisch Onderzoek
- *Respondent 6:* één respondent van het NFI zit in team plaats delict onderzoek en is Bloedspoorpatroondeskundige en Sporendeskundige Plaats Delict

Respondenten Forensische Opsporing Nederland:

- *Respondent 8:* FO Amsterdam, senior technisch rechercheur
- *Respondent 9:* FO Amsterdam, DNA-vooronderzoek/vingersporenonderzoek
- *Respondent 10:* FO Drachten, operationeel specialist DNA-lab, DNA-vooronderzoek en voorzitter DNA-zuil van het kwaliteitsnetwerk
- *Respondent 11:* FO Krimpen aan den IJssel, operationeel specialist A, DNA-vooronderzoek
- *Respondent 12:* FO Krimpen aan den IJssel, eerstelijnsonderzoeker, biologische sporen

Interpretatie interviews NFI

Over het algemeen werken de respondenten, werkzaam bij het NFI, graag met de TB-test. Onder de respondenten bestaat er een variatie in hoe lang zij met de TB-test werken, van 2,5 jaar tot wel 19 jaar. De meeste van hen werken met de TB-test in het laboratorium en zijn van mening dat de test snel en makkelijk uit te voeren is. Niemand stoort zich zodanig aan de 2-stapsmethode dat zij hier graag vanaf zouden willen. Het wordt eerder als een voordeel gezien vanwege het kunnen onderscheppen van vals-positieve reacties, wanneer er een reactie plaatsvindt na het aanbrengen van de eerste stap. Dat de Combur test een 1-stapsmethode heeft, ziet men als nadeel vanwege het niet kunnen onderscheppen van vals-positieve reacties. Allen zijn het er ook over eens dat de TB-test snel en gemakkelijk uit te voeren is. Respondent 6 vindt het hiernaast een voordeel dat de TB-test goedkoop en eenvoudig zelf te maken is en respondent 7 erkent het voordeel van de lage hoeveelheid monster dat nodig is voor het uitvoeren van de test. Nadelen zijn dat de vals-positieve reacties toch lastig te bepalen kunnen zijn en dat de test toxisch is. Een nadeel waar iedereen het over eens is, is de korte houdbaarheid van de test. Respondent 7 voegt hier aan toe dat er veel vals-positief reagerende substanties zijn en dat de test destructief is voor het DNA.
Om verschillende indicatieve testen tegen elkaar uit te kunnen zetten, heeft er op het NFI enige tijd geleden een vergelijkend onderzoek plaatsgevonden waar zowel de TB-test als de KM-test in zijn meegenomen. Destijds is er gekozen voor het behouden van de TB-test, omdat de KM-test meer toxisch en carcinogeen is. Voor deze test zullen zij hierom niet kiezen. Geen van de respondenten van het NFI had gehoord van de Combur test, tot deze aan hen werd geïntroduceerd in verband met dit onderzoek.

Omdat de respondenten tevreden zijn met de TB-test, ziet niemand direct aanleiding om over te stappen op een andere test. Vier van de zeven respondenten heeft zich nooit verdiept in andere testen. Desondanks staan alle respondenten open voor eventuele veranderingen, mits een nieuwe test minstens net zo goed presteert als de TB-test. Minder toxisch is hierbij een punt ter verbetering. Ook zou het prettig zijn als de resultaten van een indicatieve test meer informatie van het geteste spoor weergeven, vertelt respondent 1. Een voordeel dat de Combur test heeft ten opzichte van de TB-test is dat de Combur test minder intens kleurt naarmate het bloed meer verdund is. Volbloed kleurt donkerblauw en verdunde bloedsporen van bijvoorbeeld 1:50.000, kleuren lichtgroen. De verkleuringen die de Combur test geeft, liggen allemaal tussen donkerblauw en lichtgroen. Zo geeft de Combur test al meer informatie over een bloedspoor dan alleen een TB-test doet (zie bijlage 9.1, tabel 8).

Wanneer er een afweging gemaakt wordt tussen de 2-stapsmethode (minder gebruiksvriendelijk en efficiënt, maar mogelijk om vals-positieve reacties te kunnen onderscheppen) en de 1-stapsmethode – vice versa – kiezen de respondenten voor de 2-stapsmethode. De Combur is goedkoper dan de TB-test (zie bijlage 9.2), makkelijker en sneller te gebruiken, direct toepasbaar uit de verpakking, heeft geen voorbereidingstijd nodig, is niet toxisch en heeft een langere houdbaarheid. De voordelen van de Combur test worden erkent en de respondenten tonen interesse, maar ze zijn tevreden met de TB-test.

Interpretatie interviews FO Nederland

De ervaring van de forensische opsporing met de TB-test verschilt met een range van 19,5 jaar. Bij de minst ervaren, respondent 9, spreken we over 4,5 jaar ervaring met de test. De vier andere respondenten hebben >10 jaar ervaring. Het verschil tussen deze groep geïnterviewden en de geïnterviewden van het NFI, is dat ervan uitgegaan mag worden gegaan dat FO de TB-test vaak op een PD uitvoert in plaats van op het laboratorium. Dit maakt in eerste instantie geen verschil in hun kijk op de TB-test. Over het algemeen vinden de respondenten van FO de 2-stapsmethode niet storend of onhandig, ook zij zien het voordeel van het kunnen onderscheppen van vals-positieve reacties. Echter geven meerdere respondenten aan dat de vals-positieve reacties die te onderscheppen zijn door de 2-stapsmethode in een jaar tijd op één hand te tellen zijn. Een respondent vindt het werken met het filtreerpapiertje handig omdat er zo selectief monster weggenomen kan worden, maar ook zit hier het nadeel aan dat het puntje, wat vochtig is gemaakt met gedemineraliseerd water, slap wordt. Ook de respondenten bij FO vinden het een nadeel van de TB-test dat deze kort houdbaar is. Hiernaast is het (chemisch) afval een nadeel en is het kapitaal vernietiging dat de flesjes waarin de TB-testen worden bewaard, worden weggegooid. De testen worden niet allemaal op dezelfde temperatuur en met dezelfde lichttoelaatbaarheid bewaard, maar worden wel allemaal in vergelijkbare flesjes van donker glas opgeslagen. Echter merkt niemand dat dit van invloed is op de werking van de TB-test. Een nadeel van deze flesjes is dat deze kunnen lekken, wat vervelend is omdat zowel de tetrabase oplossing als de bariumperoxide oplossing toxisch zijn. De respondenten hebben zelf de verantwoordelijkheid de oude flesjes voor de nieuwe flesjes om te wisselen, hier dient goed op gelet te worden. Het verschilt per eenheid en per persoon wanneer er positieve controles worden uitgevoerd, sommigen doen dit elke dag en sommigen doen dit aan het begin van de maand. Echter vraagt respondent 9 zich af hoe goed de testen nog werken op verdund bloed na een behoorlijke tijd. De positieve controle wordt uitgevoerd op volbloed. Na een halfjaar test de TB-test nog positief op volbloed. Wanneer sterk verdunde monsters worden getest, zou dit een ander resultaat kunnen opleveren.
De respondenten staan net als de respondenten van het NFI open voor veranderingen, mits een nieuwe test weinig vals-positieven kent, gebruiksvriendelijk is, gevoeliger is, minder tijd kost om te maken, langer houdbaar is, minder slecht is voor de gezondheid, geen chemisch afval achter laat en het niet destructief is voor het DNA. Respondent 8 is van mening dat de Combur test beter lijkt voor op het laboratorium dan op de plaats delict. Door weer en wind lijkt het ‘gepriegel’ om de Combur

test uit te voeren. Zo vraagt een respondent zich af hoe contaminatiegevoelig de Combur test is. De strips zitten niet apart verpakt, waardoor bij het open maken van het potje de kans bestaat op contaminatie. Echter vonden de overige respondenten dit niet geheel terecht, omdat deze kans ook bestaat wanneer het doosje met filtreerpapiertjes wordt opengemaakt en dit een kwestie is van werknemers goed instrueren. De TB-test en de Combur test naast elkaar gebruiken lijkt drie respondenten geen goed idee, vanwege de verwarring die kan ontstaan en men dan alsnog met het (chemisch) afval zit. Twee respondenten lijkt het wel handig om te kunnen kiezen tussen twee testen, afhangend van de situatie (bepaalde locaties waar een filtreerpapiertje niet bij kan, steviger, het weer). Wanneer een eventuele verandering wordt doorgebracht, dient een nieuwe methode te worden aangekaart in het kwaliteitsoverleg. Er is één keer in de zes tot acht weken kwaliteitsoverleg. Het NFI en de FO dienen apart van elkaar een methode te valideren, omdat het aparte laboratoria zijn. Beiden moeten een nieuwe methode willen gaan gebruiken (zie bijlage 9.1, tabel 9).

Wanneer men niet van de 2-stapsmethode wil afwijken, zal de Combur test niet gekozen kunnen worden. Echter lijken de respondenten bij de FO daar wat minder aan te tillen dan de respondenten bij het NFI. Sommige respondenten lijkt de Combur test handig voor op het laboratorium en niet op de plaats delict en andere respondenten zeggen het tegenovergestelde. Over het algemeen lijken in ieder geval de respondenten bij FO positief te klinken over het gebruik van de Combur test.

5.2.2 Deelonderzoek 10: het kostenplaatje

Over het kostenplaatje is uit twee interviews informatie gehaald. Respondenten 9, 11 en 12 hebben kunnen helpen bij het kostenplaatje in kaart brengen.

In het interview bij FO eenheid Amsterdam is er informatie verkregen over de kosten van de TB-test. De tetrabase oplossing wordt gemaakt door 1,5 gram tetrabase 98% in poedervorm te mengen met 30 ml azijnzuur 99,5% en 270 ml gedestilleerd water. De bariumperoxide oplossing wordt gemaakt door 15 gram bariumperoxide 95% in poedervorm te mengen met 30 ml azijnzuur 99% en met 270 ml gedestilleerd water. Met deze hoeveelheden kunnen er zowel van de tetrabase als van de bariumperoxide 23 druppelflesjes worden gemaakt met een hoeveelheid van 25 ml per stuk. Dit is genoeg voor één maand voor de FO eenheid Amsterdam. Er worden nu nog maar 21 flesjes gemaakt, maar de hoeveelheden in het recept zijn hetzelfde.

De kosten die het maken van de tetrabase oplossing en de bariumperoxide oplossing met zich mee brengt staan beschreven in berekeningen in bijlage 9.2.

Voor het uitvoeren van 7500 tests met de TB-test kost €66,89. Echter zijn de kosten van het demiwater, de aanschaf van stickers voor op de druppelflesjes, de kosten die maandelijks worden uitgegeven aan opslag en het maken van de oplossingen (energie, beschermende kleding, etc.) en de kosten van een werknemer die een halve dag bezig is de oplossingen te maken en de flesjes te vullen niet meegenomen in deze berekeningen. Naast deze kosten, komen er per uit te voeren TB-test nog de kosten van filtreerpapiertjes bij, welke €0,13 per stuk kosten.

De kosten die deze €66,89 het meest zullen laten toenemen, zijn de kosten van de werknemer die elke maand de tetrabase- en de bariumperoxide oplossingen dient te maken. In de afgenomen interviews is gebleken dat dit ongeveer neerkomt op twee tot vier uur per maand, voor één werknemer. Dit is afhangend van de eenheid, omdat het aantal druppelflesjes per eenheid verschilt. De kosten hiervoor verschillen, afhangend van de functie en schaal van de werknemer.

Zonder de verwaarloosde kosten kost één uitgevoerde TB-test €0,14 en één uitgevoerde Combur test €0,073.

In het interview bij FO Krimpen aan den IJssel bleek dat alle druppelflesjes worden weggegooid en er elke maand nieuwe worden aangeschaft. Hierom zijn de druppelflesjes meegenomen in de berekening. De kosten voor de KM-test zijn niet berekend, omdat het NFI de KM-test niet in overweging zal nemen te gaan gebruiken.

5.3 Overkoepelende discussie

Er zijn geen vastgelegde regels over het gebruik van indicatieve testen voor bloed. FO-normen kunnen worden aangepast wanneer hier aanleiding toe is. Overleg over nieuwe ontwikkelingen vinden plaats in het kwaliteitsoverleg, waarbij verschillende ketenpartners aanwezig zijn, zoals de politie, de politieacademie en het NFI. Forensisch onderzoek is een snel ontwikkelend werkveld waarbij er continu opengestaan moet worden voor veranderingen welke ten goede zijn van waarheidsvinding, maar ook gebruiksvriendelijkheid voor personeel. Uit het theoretisch onderzoek blijkt dat alle drie de indicatieve testen zowel over voor- als nadelen beschikken. Zo is de TB-test makkelijk en eenvoudig te gebruiken, geeft de test snel resultaat en kan de test vals-positieven onderscheppen door zijn 2-stapsmethode. De TB-test is sensitief en kan bloed detecteren in een verdunning van 1:20.000. De KM-test bezit over dezelfde voordelen, is specifieker, maar ook minder sensitief. Beide testen zijn toxisch en de TB-test heeft een “shelf life” van één maand. De Combur test is eenvoudig te gebruiken vanwege zijn 1-stapsmethode, geeft snel testresultaat, is sensitiever dan de TB-test en de KM-test, heeft een kleur-verdunning ratio, maar vanwege deze 1-stapsmethode onderschept de test geen vals-positieven.

Ondanks dat de testen hun werking berust op hetzelfde principe, komen er andere resultaten uit het empirisch onderzoek en zijn er verschillende meningen gegeven over voorkeuren in interviews.

5.3.1 Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen

De vergelijking met de KM-test is in dit deelonderzoek discutabel. De oorzaak hiervan zijn de ampullen die geactiveerd worden op het moment van breken. Wanneer de KM-test niet in ampullen wordt verkregen, is de “shelf life” van de test een half jaar. Dit onderzoek is uitgevoerd vanwege de “shelf life” van de TB-test. Alle drie de testen werkten goed na dat de maand bijna verstreken was. De houdbaar van één maand blijkt uit dit deelonderzoek een juiste keuze te zijn geweest. De Combur test is het langst houdbaar en dit maakt de test het meest stabiel. Er is niet gekozen om de testen langer dan een maand uit te testen, omdat deze maatstaaf niet toegepast wordt in Nederland voor de TB-test. De testen hebben gepresteerd naar verwachting vanuit de literatuur. Wanneer de “shelf life” hoog in het vaandel staat, komt de Combur test het beste uit de test, zoals te lezen in de theorie in hoofdstuk 3.

5.3.2 Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen

De TB-test en de KM-test (na activatie) dienen koel, droog en donker bewaard te worden. De Combur test kan op kamertemperatuur bewaard worden. Het lijkt echter geen verschil te maken als dit niet gebeurt. De testen presteerden nog juist. Dit is echter niet naar verwachting vanuit de literatuur. De testen lijken niet erg gevoelig te zijn voor temperatuur. Extreme temperaturen kunnen wellicht wel van invloed zijn, maar daar hebben we weinig tot niet mee te maken in Nederland. Wanneer stabiliteit over temperatuur hoog in het vaandel staat, komt de Combur test uit beste uit de test, zoals te lezen in de theorie in hoofdstuk 3.

5.3.3 Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen

De sensitiviteit van een indicatieve test is een belangrijke eigenschap. Forensisch onderzoekers kunnen te maken hebben met weggewassen bloed. De testen presteren redelijk volgens verwachting vanuit de literatuur. De TB-test detecteert bloed in verdunningen tot ten minste 1:20.000, wat ook blijkt uit de literatuur. De KM-test detecteert bloed in verdunningen tot ten minste 1:1500, wat lager

ligt dan wat de literatuur beschrijft. De sensitiviteit van de KM-test zou ook hoger kunnen liggen, maar redt de 1:10.000 niet in dit deelonderzoek, wat volgens de literatuur wel zou moeten kunnen. Bekend is dat de KM-test minder gevoelig is dan de TB-test en de Combur test en dit is ook in dit deelonderzoek gebleken. De Combur test zou bloed in verdunningen moeten kunnen detecteren tot 1:500.000. Dit is niet getest in dit deelonderzoek, maar in dit deelonderzoek blijkt dat bloed detecteren in verdunningen van ten minste 1:50.000 lukt. Wanneer sensitiviteit hoog in het vaandel staat, komt de Combur test het beste uit de test volgens dit deelonderzoek en de theorie.

5.3.4 Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed

Indicatieve testen zouden bloed beter moeten kunnen detecteren wanneer rode bloedcellen zich buiten het lichaam bevinden en de tijd verstrekt. In dit deelonderzoek blijkt dat de intensiteit van de kleuren voor elke oudheid niet verandert. Dit kan te maken hebben met dat het volbloed is en hierbij ook verwacht wordt vanuit de literatuur, dat de testen reageren wanneer dit vers is en er nog geen conversie heeft plaatsgevonden. Een reactie vindt niet alleen plaats bij Fe3+ of Fe4+, maar ook bij Fe2+. Wanneer detectiegrens over ouderdom van het bloed hoog in het vaandel staat, zou de keuze voor het gebruiken van een bepaalde test geen verschil opleveren volgens dit deelonderzoek.

5.3.5 Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling

De vraag in deelonderzoek was of een verandering van ondergrond invloed zou hebben op een test. Wat blijkt is dat bij het gebruik van een poreuze ondergrond, er meer bloed wordt geabsorbeerd door de ondergrond. Wanneer men te maken heeft met verdunningen of weinig materiaal, wordt het hierdoor eventueel nog lastiger om een monster van de ondergrond af te nemen. De swabs en het padje van de Combur test absorberen hierdoor alle drie zelf minder monster vanaf de ondergrond. De verkleuringen van de TB-test en de Combur test worden hierdoor minder intens. Wanneer de Combur test op een swab afgenomen zou worden, zou hier twee keer dit probleem ontstaan. De intensiteit bij de Combur test blijft hetzelfde, omdat deze alleen in intensiteit afneemt wanneer de test bloed in verdunningen detecteert. Wanneer invloed van ondergronden op een test hoog in het vaandel staat, is het belangrijk overwegingen te maken tussen of er vaak volbloed of weggewassen bloed getest wordt of dat er weinig materiaal aanwezig is. De verkleuringen van de TB-test en de KM-test worden minder intens bij een poreuze ondergrond en de Combur test niet.

5.3.6 Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen

Deelonderzoek 6 heeft overlapping met deelonderzoek 5. Wat hier is gebleken, is dat het belangrijk is om vast te stellen hoe een test gebruikt dient te worden. De TB-test en de KM-test worden niet direct toegepast op een spoor. Bij de Combur test is dit wel mogelijk. Maar wanneer er weinig materiaal aanwezig is om een monster van te nemen, zou men dit waarschijnlijk niet willen. Een absorberende ondergrond en verdund bloed kunnen ook een rol spelen in het maken van deze keuze. De Combur test interfereert niet met het DNA en zou hierom direct kunnen worden toegepast. Echter wil men graag afnemen met een swab en deze swab kunnen opsturen voor DNA-onderzoek. Op dezelfde swab kan de Combur test worden toegepast. Er is hierdoor minder materiaal wat opgenomen kan worden door het padje. Echter is er maar één swab nodig voor de Combur test en dit kan niet bij de TB-test en de KM-test, vanwege hun DNA-destructiviteit. Wanneer er weinig materiaal aanwezig is zal hierom altijd eerst moeten worden nagedacht of een indicatieve test überhaupt moet worden toegepast. Wanneer er voldoende materiaal aanwezig is, kan er bij de TB-test en de KM-test het beste gekozen worden voor indirect testen en bij de Combur test voor direct testen. Beide manier van testen geven alleen bij de Combur test een gewenst resultaat en hierom kan er volgens dit deelonderzoek het beste gekozen worden voor de Combur test.

5.3.7 Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven

De TB-test en de KM-test kunnen vals-positieven onderscheppen door hun 2-stapsmethode. De Combur test heeft dit niet en dit is een nadeel van deze test. De KM-test staat bekend om zijn specificiteit. De TB-test en de KM-test kenden in dit onderzoek twee vals-positief reagerende substanties en de Combur test één. Dit maakt de test specifieker. Echter is in de praktijk onbekend wat voor substantie er wordt getest en dit maakt het lastiger te zeggen of het om een vals-positief resultaat gaat. Bij de TB-test en de KM-test deden de reacties zich voor na de eerste stap, de verkleuring van de KM-test is bovendien blauwgrijs.
De TB-test kent minder vals-negatieven. Van de acht geteste substanties, reageerde de test alleen volledig door de aardappel heen op bloed. De KM-test reageerde op geen van deze substanties heen op bloed. De Combur test reageerde volledig door chocola en aardappel heen op bloed. Vals-negatieven zijn broccoli en vitamine C. Door de andere vier substanties heen reageerde de test gedeeltelijk op het bloed (zie tabel 5 en 6 voor de volledige informatie). Wanneer weinig vals-positieven belangrijk zijn, zal de KM-test de beste keuze zijn, omdat ze én te onderscheppen zijn door de 2-stapsmethode én de kleur niet roze wordt. Wanneer weinig vals-negatieven belangrijk zijn, zal de beste keuze de Combur test zijn. Hier kan een 2-stapsmethode niks in betekenen.

5.3.8 Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene

Indicatieve testen zouden beter moeten werken door de conversie van luminol of lumiscene, na het gebruik van deze luminescentietechnieken. Echter reageerde de TB-test niet meer. Dit is waarschijnlijk te wijten aan de verhouding bloedverdunning en luminol/lumiscene. Wanneer er overmatig gesprayd wordt, bestaat er kans dat op deze locatie een vals-negatief TB-test resultaat verkregen wordt. Wanneer de invloed van luminol en lumiscene op een indicatieve test hoog in het vaandel staat, kan er het best worden gekozen voor de KM-test of de Combur test volgens dit deelonderzoek.

5.3.9 Deelonderzoek 9: de opinie van forensisch onderzoekers

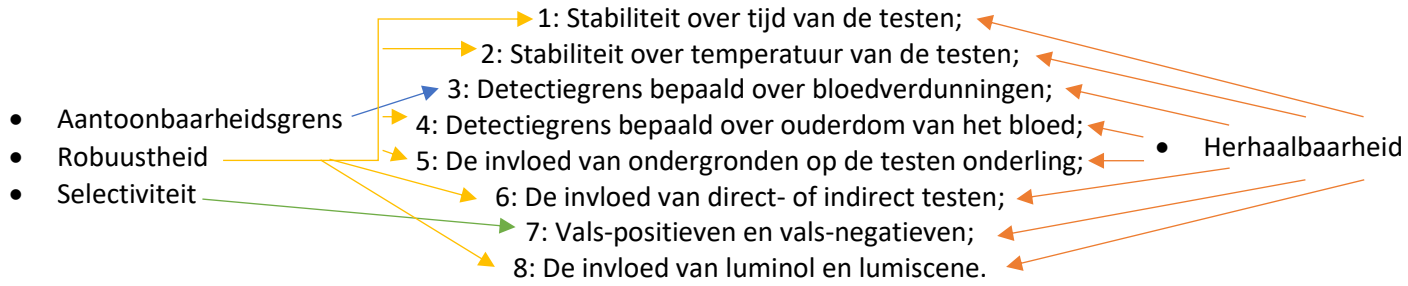
Een groot deel van de respondenten was het er over eens dat de 2-stapsmethode een voordeel is. De insteek van dit hele onderzoek was een test vinden die gebruiksvriendelijker is en beter voor de gezondheid is. Uit de interviews is gebleken dat er niet voor de KM-test gekozen gaat worden. Deze test is in het verleden al eens onderworpen aan een vergelijkend onderzoek met de TB-test en hier is toen niet voor gekozen vanwege zijn toxiciteit. Hiermee valt de KM-test af in dit onderzoek om een mogelijke alternatief te kunnen zijn voor de TB-test. In de interviews is ondanks de 1-stapsmethode belangstelling getoond voor de Combur test. Sommige respondenten waren meer geïnteresseerd in de Combur test dan anderen. Nadelen die zijn genoemd naast de 1-stapsmethode, is de contaminatiegevoeligheid. Echter is dit probleem ook aanwezig met de filtreerpapiertjes van de TB-test. Voordelen van de Combur test, zoals zijn gevoeligheid en zijn non-toxiciteit, werden erkend. Sommige respondenten lijkt het handig voor op het laboratorium en anderen waren van mening dat op de PD een betere toepassing lijkt. Sommige respondenten zien voordeel in de testen naast elkaar te kunnen gebruiken en dat er zo gekozen kan worden voor de test die het beste past bij de situatie, anderen zien daarin verwarring of dat medisch afval en toxiciteit dan nog steeds een probleem zijn. Wanneer men niet wil afstappen van de 2-stapsmethode, zal er niet gekozen kunnen worden voor de Combur test. Een verandering in indicatieve test is mogelijk en moet worden besproken in het kwaliteitsoverleg. Voor veel respondenten ligt de prioriteit voor het onderscheppen van vals-positieven hoger dan de gebruiksvriendelijkheid van een 1-stapsmethode.

5.3.10 Deelonderzoek 10: het kostenplaatje

In het berekenen van de kosten is de KM-test niet meegenomen, omdat deze test niet gekozen zal worden als vervanger van de TB-test.

De TB-test kost meer dan de Combur test. Het verschil in kosten kan men niet aanzienlijk genoeg vinden om over te stappen van test. Echter zitten de kosten van de TB-test in het personeel dat de test elke maand moet maken. Dit duurt gemiddeld twee tot vier uur. De kosten van het personeel hangen af van de functie van deze werknemer. Dit kan het verschil tussen de twee testen zodanig groot maken dat men de Combur test de moeite waard kan vinden om in ieder geval te valideren. De Combur test is daarnaast klaar voor gebruik wanneer deze wordt aangeschaft. Er is geen sprake meer van chemisch afval en druppelflesjes die elke maand worden weggegooid.

5.3.11 Prestatiekenmerken



Herhaling figuur 1: weergave van welke aspecten/deelonderzoeken vallen onder welk prestatiekenmerk.

De Combur test presteert op de acht aspecten beter of net zo goed als de andere twee testen (zie herhaling figuur 1 voor overzicht aspecten/deelonderzoeken en prestatiekenmerken). Bij deelonderzoek 4 is er geen voorkeur. Bij deelonderzoek 7 heeft de Combur test zowel het minst vals-positieve reacties als het minst vals-negatieve reacties. Echter zijn de vals-positieve reacties van de KM-test een blauwgrijze kleur in plaats van een roze kleur en wordt dit uiteindelijk hierom niet beschouwd als een degelijke vals-positieve reactie. In deelonderzoek 8 presteerden de Combur test en de KM-test net zo goed.
Om de herhaalbaarheid te bepalen is er naar elk in triplo geteste preparaatglaasje gekeken. Wanneer een indicatieve test drie keer hetzelfde reageerde, werd dit als herhaalbaar beschouwd.
In deelonderzoek 3 toont de KM-test één inconsequentheid (zie bijlage 9.3, afbeelding 31).
In deelonderzoek 6 toont de TB-test één inconsequentheid, (zie bijlage 9.3, afbeelding 73 en 74) en één inconsequentheid in deelonderzoek 7 (zie bijlage 9.3, afbeelding 105).
In deelonderzoek 7 toont de Combur test vier inconsequentheden (zie bijlage 9.3, afbeeldingen 87, 89, 90 en 92).

De testen die het best presteren op de prestatiekenmerken zijn:
Herhaalbaarheid: de KM-test
Aantoonbaarheidsgrens: de Combur test
Robuustheid: de Combur test
Selectiviteit: de Combur test/de KM-test

6. Conclusie

Om antwoord te kunnen geven op de hoofdvraag is er naast theoretisch onderzoek ook empirisch onderzoek uitgevoerd. In dit empirisch onderzoek is er gekeken naar acht aspecten welke zijn onderverdeeld onder vier prestatiekenmerken. Deze aspecten zijn onderzocht in deelonderzoeken.

1. Stabiliteit over tijd van de testen;
2. Stabiliteit over temperatuur van de testen;
3. Detectiegrens bepaald over bloedverdunningen;
4. Detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed;
5. De invloed van ondergronden op de testen onderling;
6. De invloed van direct- of indirect testen;
7. Vals-positieven en vals-negatieven;
8. De invloed van luminol en lumiscene.

Onder herhaalbaarheid vallen alle acht de aspecten, in elk deelonderzoek wordt dit meegenomen. Onder aantoonbaarheidsgrens valt aspect 3. Onder robuustheid vallen de aspecten 1, 2, ,4, 5, 6 en 8. Onder selectiviteit valt aspect 7.
In deelonderzoek 1, 2, 3, 5 en 6 presteert de Combur 3 E test het beste. In deelonderzoek 4 is er geen voorkeur voor een indicatieve test voor bloed. In deelonderzoek 7 kent de Kastle-Meyer test het minst vals-positief reagerende substanties die niet te onderscheiden zijn van positieve reacties. De Combur 3 E test kent het minst vals-negatieve reacties. In deelonderzoek 8 presteren de Kastle-Meyer test en de Combur 3 E test net zo goed. De tetrabasetest presteert nergens het best.
Dit bekent dat de Combur 3 E test het beste uit de test komt bij de prestatiekenmerken aantoonbaarheidsgrens en robuustheid. De selectiviteit deelt de Combur 3 E test met de Kastle-Meyer test. De Kastle-Meyer test is het meest herhaalbaar.
Om een compleet antwoord te kunnen geven op de hoofdvraag zijn er interviews uitgevoerd waar informatie uit is gehaald over de gebruiksvriendelijkheid en de kosten. Er is gebleken dat de Kastle-Meyer test in het verleden onderworpen is aan vergelijkend onderzoek met de tetrabasetest op het Nederlands Forensisch Instituut en er is toen gekozen voor de tetrabasetest. De Kastle-Meyer test zal zeer waarschijnlijk niet kunnen dienen ter vervanging voor de tetrabasetest vanwege de toxiciteit en de mindere sensitiviteit. Forensisch onderzoekers in Nederland vinden de 2-stapsmethode van de tetrabasetest prettig werken en zij zijn over het algemeen tevreden over de test. Men staat open voor verandering in indicatieve test voor bloed, mits deze minstens net zo goed presteert. Uit dit onderzoek blijkt de Combur 3 E test minstens net zo goed te presteren. De test is sensitief, niet toxisch, gebruiksvriendelijk, direct klaar voor gebruik en bovendien liggen de kosten lager. Met deze eigenschappen kan er gesteld worden dat de Combur 3 E test als alternatief voor de tetrabasetest kan dienen.

7. Aanbevelingen

- De eerste aanbeveling is vervolgonderzoek op menselijk bloed uitvoeren. Uiteindelijk worden indicatieve testen voor bloed gebruikt op voornamelijk menselijk bloed. Wellicht zouden er andere resultaten zijn wanneer de indicatieve testen op menselijk bloed worden getest, zeker wanneer het om vals-positieven en vals-negatieven gaat. Menselijk bloed heeft een hogere hematocrietwaarde dan runderbloed. Dit zou eventueel verschil kunnen maken bij het reduceren van het aantal vals-negatieven in dit onderzoek.

- EDTA kan van invloed zijn op vals-positieven en vals-negatieven. Wanneer men wil weten wat exact de consequenties zijn van het toevoegen van EDTA aan runderbloed, kan deelonderzoek 7 uitgevoerd worden zonder EDTA. Echter zou hiervoor de methodologie moeten worden aangepast, omdat het bloed direct begint te stollen buiten het lichaam. Dit onderzoek dient dan secuur uitgevoerd te worden, in de zin van extreem korte tijden tussen het pipetteren, afnemen van tests en fotograferen. Wanneer er verschil in tijd is tussen het pipetteren en afnemen van alle testen of het afnemen van alle testen en het fotograferen, kan dit mogelijk een te grote variabele worden.

- Wanneer er werkelijke validaties worden uitgevoerd van bijvoorbeeld de Combur 3 E test, dienen de deelonderzoeken uitgebreider te worden uitgevoerd en zullen er meer prestatiekenmerken moeten worden meegenomen, zoals reproduceerbaarheid. Het uitbreiden van de deelonderzoeken kan bijvoorbeeld door meer ondergronden en meer mogelijke vals-positief of vals-negatief reagerende substanties toe te voegen.

- Uit de theorie blijkt dat de chemicaliën in het padje van de Combur test zijn geïmpregneerd en niet interfereren met het DNA. Wanneer men de Combur test wil inzetten en ook de direct test methode wil kunnen toepassen, dient er bij een validatie gekeken te worden naar wat werkelijk de invloed is van de Combur test op het DNA. Waar ook naar gekeken kan worden is of het padje eventueel voor DNA-analyse gerund kan worden in plaats van een swab. Wanneer dit allemaal mogelijk is, zijn er geen swabs meer nodig.

- In deelonderzoek 8 zijn luminol en lumiscene gepipetteerd op het bloed, waarna de tetrabasetest een vals-negatief resultaat gaf. Om dit deelonderzoek meer praktijk representatief te maken, kan dit eventueel opnieuw worden getest. De methode hiervoor is de luminol en de lumiscene sprayen. Dit maakt de verhouding van bloedverdunning en luminol/lumiscene meer representatief voor de praktijk.

- In vervolgonderzoek zouden deelonderzoeken 1, 2, 4 – 8 eventueel uitgebreid kunnen worden door verdunningen mee te nemen. De TB-test kan na een halfjaar zelfs nog positief reageren op volbloed. Eventueel zou er in sommige deelonderzoeken meer verschil waarneembaar kunnen zijn tussen de testen onderling, wanneer er op verdunningen wordt getest.

- Wanneer men in de toekomst eventueel de Kastle-Meyer test wil gebruiken, valt aan te raden geen gebruik te maken van de kit met ampullen, zodat de “shelf life” van de test beter getest kan worden.

8. Literatuurlijst

[1] Eversdijk, M. Unpublished. Basic BPA Course *Loci Forensics B.V.,* **2019.**
[2] James S, H., Nordby J., editors. Forensic Science: An introduction to scientific and investigative techniques. 3th ed. Boca Raton: CRC Press, 2009. P 212, 213, 227, 263-269.
[3] https://wetten.overheid.nl/zoeken (geraadpleegd op 18-10-19).
[4] http://kompol.politieacademie.nl/ (geraadpleegd op 31-10-19).
[5] Mr drs Morselt, I. Programma Versterking Opsporing en Vervolging, NFI voortgangsrapportage 2009. Versie D1. **2009,** 11 – 12.
[6] Algemene FO-norm 02.10 Veiligstellen van humaan biologische sporen. Versie 1.0. Politie, **2016,** 1 – 2.
[7] Toelichting Algemene FO-norm 02.10 Veiligstellen van humaan biologische sporen. Versie 1.0. Politie, **2016,** 1 – 4.
[8] FO-norm 02.20 Veiligstellen van bloedsporen. Versie 1.0. Politie, **2016,** 1 – 2.
[9] Toelichting FO-norm 02.20 Veiligstellen van bloedsporen. Versie 1.0. Politie, **2016,** 1 – 4.
[10] FO-norm 02.70 Behandelingsmethoden voor sporen geplaats met bloed. Versie 1.0. Politie, **2017,** 1.
[11] Toelichting FO-norm 02.70 Behandelingsmethoden voor sporen geplaatst met bloed. Versie 1.0. Politie, **2017,** 1 – 5.
[12] Brenzini, V., Pathak, R. A comparison study of the detection of bloodstains on painted and cleaned surfaces with luminol *Elsevier, Forensic Science International,* **2018,** 75 – 82.
[13] https://www.cyberpoli.nl/sikkelcel/medisch/bloed_samenstelling (geraadpleegd op 19-11-19).
[14] https://www.aaenpnh.nl/alles-over-aa-pnh/alles-over-aa/diagnose-en-onderzoeken/bloedonderzoek (geraadpleegd op 19-11-19).
[15] https://www.bloedcellen.nl/witte-bloedcellen/ (geraadpleegd op 19-11-19).
[16] https://www.hematologienederland.nl/normaalwaarden (geraadpleegd op 19-11-19).
[17] https://www.hekserij.nl/shop/cosmetica/conserveermiddelen/dinatrium-edta/ (geraadpleegd op 17-12-19).
[18] https://www.labshop.nl/EDTA-dinatriumzout-0.25-kg (geraadpleegd op 17-12-19).
[19] https://www.supersmart.com/nl--lever-ontgifting--edta-250-mg--0297 (geraadpleegd op 17-12-19).
[20] Nieuwenhoven, E. van. Framboos Rubus idaeus L. Monografie, **2019,** 26 – 17.
[21] Matheson, C. D., Veall, M-A. Presumptive blood test using Hemastix with EDTA in archaeology *Elsevier, Journal of Archaeological Science,* **2013,** 230 – 241.
[22] Oosterman, W. T., Kokshoorn, B., Maaskant-van Wijk, P. A., de Zoete, J. From sub-source to source: Interpreting results of biological trace investigations using probabilistic models *Elsevier, Forensic Science International: Genetics Supplement Series,* **2015,** 590 – 591.
[23] De Vittori, E., Barni, F., Lewis, S. W., Antonini, G., Rapone, C., Berti, A. Forensic application of a rapid one-step tetramethylbenzidine-based test for the presumptive trace detection of bloodstains at the crime scene and in the laboratory *Elsevier, Forensic Chemistry,* **2016,** 63 – 74.
[24] Lalonde, W., Millman, J. S. Case study: Loss of Kastle-Meyer test specificity on jeans *Elsevier, Science & Justice,* **2019,** 359 – 361.
[25] Casali, F., Ciavaglia S. A., Gannicliffe, C., Lidstone, N., Webster, L. M. I. Validation of Presumptive Tests for Non-Human Blood using Kastle Meyer and Hemastix Reagents *Elsevier, Science & Justice,* **2019,** 1 – 6.
[26] Stewart, A., Deacon, P., Zahra, N., Uchimoto, M. L., Farrugia, K. J. The effect of mark enhancement techniques on the presumptive and confirmatory tests for blood *Elsevier, Science & Justice,* **2018,** 386 – 396.
[27] http://www.lumiscene.com./ (geraadpleegd op 27-09-19).
[28] Brigantini, M., Lumiscene För syns skull *Statens Kriminaltekniska Laboratorium,* **2011**, 3, 4.

[29] A.J. Meulenbroek, auteur. De Essenties van forensisch biologisch onderzoek: Humane biologische sporen en DNA. Vijfde druk. Paris bv, 2009. P51.
[30] https://kompol.politieacademie.nl/PKNForensicNorms/FT-norm%20251.01%20%20Tetrabase-test.htm (geraadpleegd op 16-10-15).
[31] Material Safety Data Sheet 4,4'-Methylenebis(N,N-dimethylaniline). Acros Organics, **2009,** 1 – 4.
[32] Material Safety Data Sheet Barium peroxide. Thermo Fisher Scientific, **2018,** 1 – 7.
[33] Material Safety Data Sheet Azijnzuur. Carl Roth, **2018,** 1 – 17.
[34] http://en.chembase.cn/molecule-91859.html (geraadpleegd op 27-09-19).
[35] https://www.forensischinstituut.nl/ (geraadpleegd op 27-09-19).
[36] Sloots, J., Lalonde, W., Reid, B., Millman, J. Kastle–Meyer blood test reagents are deleterious to DNA *Elsevier, Forensic Science International,* **2017,** 141 – 146.
[37] http://sieplex.com/article/kastle-meyer-test (geraadpleegd op 27-09-19).
[38] Material Safety Data Sheet Fenolftaleïne. Carl Roth, **2019,** 1 -14.
[39] Material Safety Data Sheet Zink. Carl Roth, **2019,** 1 – 12.
[40] Material Safety Data Sheet Sodium Hydroxide. Lab Chem, **2018,** 1 – 9.
[41] Material Safety Data Sheet Waterstofperoxide. FMC, **2012,** 1 – 11.
[42] Thanakiatkrai, P., Raham, K., Pradutkanchana, J., Sotthibandhu, S., Kitpipit, T. Direct-STR typing from presumptively-tested and untreated body fluids *Elsevier, Forensic Science International: Genetics,* **2017,** 1 – 9.
[43] Bijsluiter Combur 3 Test E, referentienummer 11896857 191. Roche Diagnostics GmbH. Versie 3.0. **2014.**
[44] https://www.voedingscentrum.nl/encyclopedie/vitamine-c.aspx (geraadpleegd op 03-01-30).
[45] Material Safety Data Sheet Combur 3-Test E 50 str. Roche, **2007,** 1 – 3.
[46] https://vectorlabs.com/catalog/product/view/id/547/ (geraadpleegd op 27-09-19).
[47] Santos, V. R. D., Paula, W. X., Kalapothakis, E. Influence of the luminol chemiluminescence reaction on the confirmatory tests for the detection and characterization of bloodstains in forensic analysis *Elsevier, Forensic Science International: Genetics Supplement Series,* **2009,** 196 – 197.
[48] Ramsthaler, F., Ebach, S. C., Birngruber, C. G., Verhoff, M. A. Postmortem interval of skeletal remains through the detection of intraosseal hemin traces. A comparison of UV-fluorescence, luminol, Hexagon-OBTI1, and Combur1 tests *Elsevier, Forensic Science International,* **2010,** 59 – 63.
[49] http://www.bvda.com/nl/luminol (geraadpleegd op 27-09-19).
[50] http://www.shockingscience.com/fun-experiment-with-flourescent-substance-flourescin/2/ (geraadpleegd op 27-09-19).
[51] https://www.coloprint.de/page/blutspurensicherung-lumiscene (geraadpleegd op 27-09-19).
[52] Vossen, J. P. H. M. Referentiewaarden *Faculteit Diergeneeskunde, Universitair Veterinair Diagnostisch Laboratorium,* **2008,** 1 – 2.
[53] https://www.purecoverz.nl/Category/145-biologisch-katoenen-jersey-organic-cotton-jersey.aspx (geraadpleegd op 08-01-20).
[54] Toxicological profile for barium and barium compounds *U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry,* **2007,** 21, 109.
[55] https://www.heliosholland.com/Pipetflesje-30ml-met-pipet?gclid=CjwKCAiAmNbwBRBOEiwAqcwwpecJxFg0n89xPOoB9eHVuyyvQKWwXkNwq_5ZZ9vpDP6GLq8blHYrnxoCR6IQAvD_BwE (geraadpleegd op 08-01-20).
[56] https://www.flessenland.nl/Flessen/Speciale-flessen/medicijn-flessen-met-pipet/30ml-bruin-medicijn-flesje-met-zwart-pipet.html (geraadpleegd op 08-01-20).
[57] https://www.fishersci.nl/shop/products/whatman-grade-3mm-chr-cellulose-chromatography-paper-circles-2/11312875?crossRef=1030-025#?keyword=1030-025 (geraadpleegd op 08-01-20).

9. Bijlagen

9.1 Bijlage 1: interviews

Tabel 7: vragen en antwoorden interviews respondenten uit Kroatië en uit Ierland.

	Kroatië Combur 3 E test	Ierland KM-test
Indicatieve test voor bloed	Combur 3 E test of Hemastix	KM-test
Manier van bewaren	Kamertemperatuur	Kamertemperatuur
Ervaring met andere testen	Alleen de testen die worden gebruikt in Kroatië	Alleen de testen die worden gebruikt in Ierland
Tijdsintensieve voorbereiding	Nee	Nee, ze maken KM-test niet zelf, maar kopen het kant-en-klaar in
Gebruiksvriendelijkheid	Ja, het nadeel is dat het padje klein is, dus er zijn veel strips nodig om een gebied te testen. Verder simpel, goedkoop en makkelijk in gebruik	Ja
Effectiviteit	Ja	Ja
Toxiciteit	Nee	Ja
Ervaring met vals-positieven als -negatieven	Insecten en roest kunnen vals-positief reageren, niet bekend met vals-negatieve reacties	Nee
Gevoeligheid	De test is erg gevoelig en stabiel	De test is gevoelig genoeg, het werkt altijd
Shelf life	De Combur test werkt nog na de houdbaarheidsdatum	De testen zijn altijd op voor de houdbaarheidsdatum
Positieve- en negatieve controle	Altijd	Altijd
Een goede test moet voldoen aan	Gevoeligheid, stabiliteit, weinig vals-positieven, gebruiksvriendelijk. Als geld geen rol speelt, dan het liefst “confirmatory” tests	Gevoelig, de resultaten zijn reproduceerbaar, niet toxisch, lange “shelf life”, stabiel, 1-stapsmethode (bij elke extra handeling, meer kans op fouten of contaminatie)
Confirmatory test	RSID of Hematrace, gebruiken ze niet standaard	Hematrace, gebruiken ze niet standaard
Bekend met de TB-test	Nee, maar zou niet willen overstappen vanwege het voorbereiden, de korte houdbaarheidsdatum, niet handig om flesjes te gebruiken	Nee, maar zou niet willen vanwege de toxiciteit, de stabiliteit en de korte houdbaarheidsdatum

Tabel 8: vragen en antwoorden interviews respondenten 1 t/m 7, allen werkzaam bij het NFI.

	Respondent 1	Respondent 2	Respondent 3	Respondent 4	Respondent 5	Respondent 6	Respondent 7
Hoe lang heb je ervaring met TB?	19 jaar	5 jaar	5 jaar	5 jaar	8 jaar	14 jaar	2,5 jaar
Ervaring in het laboratorium (lab) of PD en verschil?	Vooral het lab, geen verschil in werking	Alleen in het lab	Alleen in het lab	Alleen in het lab	Alleen het lab	Beide, geen verschil in werking	Alleen het lab
Ervaring met andere testen?	RSID bloed en Bluestar Obti	RSID bloed en Bluestar Obti	RSID bloed en Bluestar Obti	RSID bloed en Bluestar Obti	Nee	RSID bloed	RSID bloed en Bluestar Obti
Heb je voorkeur voor een van deze testen?	TB: 2-stapsmethode, is een belangrijk kwaliteitskenmerk	TB: snel, duidelijk en vals-positieven herkennen	TB: snel, duidelijk en vals-positieven herkennen	TB: snel, duidelijk en vals-positieven herkennen	N.v.t.	TB: gebruiksvriendelijker en sneller	TB: werkt snel en gemakkelijk uit te voeren op het lab
Wat zijn in jouw ogen de voor- en nadelen van de TB-test?	Voordelen: 2-stapsmethode i.v.m. vals-positieven herkennen. Nadelen: niet humaan-specifiek.	Nadelen: de test is één maand houdbaar	Nadelen: de test is één maand houdbaar	Nadelen: de test is één maand houdbaar	Voordelen: snel, gevoelig, praktisch. Nadelen: toxisch, vals- positieven/-negatieven zijn soms moeilijk te bepalen.	Voordelen: 2-stapsmethode om vals-positieven te herkennen, makkelijk en snel, goedkoop en eenvoudig zelf te maken. Nadelen: niet humaan-specifiek, de flesjes kunnen lekken, het is toxisch en de houdbaarheid.	Voordelen: snelle test, makkelijk in gebruik en de test werkt goed bij minimale bloedsporen en weinig monster nodig. Nadelen: veel vals-positieven. Niet altijd gevoelig genoeg, het is destructief.
Ben je bekend met de KM-test of Combur test?	Bekend met de KM-test, is in het verleden vergelijkend onderzoek gedaan tussen de KM-test en de TB-test en toen is gekozen voor de TB-test. Combur test niet.	Nee	Nee	Nee	De KM-test wel van gehoord, maar niet mee gewerkt, de Combur test niet.	De KM-test wel van gehoord, maar niet mee gewerkt in de praktijk, de Combur test niet van gehoord.	De KM-test wel, de Combur test niet. De KM-test kleurt na een tijd bijna altijd roze, zorgt voor veel vals-positieven en destructief voor DNA, veel van het spoor gaat verloren

Ziet u ruimte voor verbetering ten opzichte van de TB-test?	Ik zou iedere indicatieve test om de zoveel tijd willen testen of deze nog goed werkt en oplevert wat hij moet doen	Ik ben tevreden	Ik ben tevreden	Ik ben tevreden	Nooit in verdiept in alternatieven, tevreden met de TB-test	Ja, als het rekening houdt met de positieve aspecten van de TB-test en de nadelige aspecten kan ondervangen	Als het net zo goed en makkelijk werkt
Wat zou er moeten gebeuren voor een verandering in het gebruik van indicatieve test?	Meerwaarde, de kosten/baten analyse, gebruik op het lab, kwaliteitsaspecten, validatie en implementatie. Als de test prettiger en beter werkt, minder toxisch, minder contaminatiegevoelig , betere uitslagen e meer informatie over sporen.	Indien de eisen voldoen: snel uit te voeren, vals-positieven herkennen. Vergelijking met de TB-test. Maar Combur herkent geen vals-positieven en bij de KM-test ben je het spoor kwijt	Indien de eisen voldoen: snel uit te voeren, vals-positieven herkennen. Vergelijking met de TB-test. Maar Combur herkent geen vals-positieven en bij de KM-test ben je het spoor kwijt	Indien de eisen voldoen: snel uit te voeren, vals-positieven herkennen. vergelijking met de TB-test. Maar Combur herkent geen vals-positieven en bij de KM-test ben je het spoor kwijt	Er moet een validatie-rapport worden opgemaakt met betere resultaten dan de TB-test. Combur test niet handig voor minimale bloedsporen 1-staps-methode (vals-positieven) KM-test niet vanwege sensitiviteit.	De test moet zijn gevalideerd door het NFI. De KM-test niet, minder gevoelig, kostbaarder en niet makkelijker in gebruik. De Combur test alleen als deze voldoende gevalideerd is en minimaal gelijk presteert als de TB-test.	De test moet significant beter zijn. Medewerkers moeten deze resultaten kunnen zien en cursussen over het gebruik en om vals-positieven te herkennen.
Vervangen of beide gebruiken?	Bij moeilijk te bereiken locaties of bij twijfels over TB-resultaat	Geen van beide	Geen van beide	Geen van beide	Kent de tests niet goed genoeg	Als deze gevalideerd is	Vervangen of niet, naast elkaar zorgt voor verwarring

Tabel 9: vragen en antwoorden interviews respondenten 8 t/m 12, allen werkzaam bij het FO Nederland.

	Respondent 8	Respondent 9	Respondent 10	Respondent 11	Respondent 12
Hoe lang heb je ervaring met TB?	16 jaar	4,5 jaar	12 jaar	23 jaar	10 jaar
Wat zijn in jouw ogen de voor- en nadelen van de TB-test?	Voordelen: indicatief op de PD, Bij een negatieve reactie nemen ze het wel eens mee. Nadelen: geen 2-stapsmethode niet onhandig, wel makkelijker als er maar één druppel nodig is.	Voordelen: werken met filtreerpapiertje vanwege het vouwen in een puntje en selectief iets wegnemen, 2-stapsmethode vanwege de vals-positieve reacties. Nadelen: een andere test kan misschien nog gevoeliger zijn.	Voordelen: prettig, snel, makkelijk, 2-stapsmethode waardoor vals-positieven er redelijk makkelijk uit worden gefilterd. Nadelen: de houdbaarheid, dat de test zelf gemaakt wordt, waardoor de samenstelling iets kan verschillen en niet humaan-specifiek is.	Voordelen: gevoelige en snelle test en vanwege de gevoeligheid ook met luminol reacties. Nadelen: test wordt zelf gemaakt in het chemisch lab, het kost een hoop flesjes, materiaal, chemische stoffen, oude flesjes moeten weer ingenomen worden. Test wat nog over is aan het eind van de maand gaat met flesje en al in de prullenbak.	Voordelen: gevoelige en snelle test, vind de 2-stapsmethode niet storend Nadelen: niet lang houdbaar en het chemisch afval, een droge test is misschien beter.
Zijn er verschillen in hoe de TB-test wordt bewaard?	Standaard in de bus, nieuwe setjes staan op de tafel. Ze worden niet gekoeld bewaard, ook niet in de bus. Eén keer in de maand wordt het gemaakt. Je moet zelf alles wisselen, als je niet op let, loop je met een oud setje. Sommige bussen worden niet vaak gebruikt, dus dan kans op een oud setje. De oude testen gaan weer terug naar boven.	De testen worden allemaal hetzelfde bewaard en gebruikt. Met de eerste lijn is er wel een verschil, hen is aangeleerd om monster met een swab weg te nemen, waardoor er te veel materiaal werd meegenomen.	De sets worden in de auto's bewaard, hierdoor worden ze aan verschillende temperaturen blootgesteld. Nooit getest of het van invloed is, maar heeft collega's er nooit over gehoord. De bariumperoxide gaat wel snel achteruit. De dopjes knappen soms bijna. Ze maken de testen in het chemisch lab en niet in het DNA-lab om veilig te werken. Zodra de testen in oplossing zijn, zijn ze relatief veilig.	Hij wordt niet donker en koel bewaard. Ze hebben wel eens een drie maanden oude test gebruikt en dat werkte ook nog.	Op het lab op kamertemperatuur of in de bus. Iedere bus bezit over twee flesjes en na een maand wordt het weggedaan. De flesjes worden wel donker maar niet op een vast temperatuur bewaard.
Hoe vaak worden er positieve- en negatieve controles uitgevoerd en hoe zit het met vals-positieve en vals-negatieve reacties?	De een voert deze controles elke dag uit en de ander niet. De TB-test kan vals-positieven onderscheppen door de	Altijd positieve controle op volbloed, maar niet op verdunningen, na een jaar of halfjaar zijn reacties nog	Elke dag voor gebruik doen ze positieve controles. Roest reageert lang niet altijd, maar wel lastig te onderscheiden op het oog.	De keren dat er een vals-positieve reactie ontstaat na alleen de tetrabase oplossing kan je op één hand tellen in het jaar.	Bijna nooit vals-positieve reacties na het druppelen van de tetrabase oplossing.

	eerste stap. Je krijgt nooit resultaten terug, hierdoor onbekend hoe vaak vals-positieve en -negatieve reacties.	positief, van verdunningen is dat onbekend. Vreemde reacties zijn lastig. Lastig te vergelijken als je niet beter weet. Als er geen DNA-profiel uitkomt dan was het dierlijk bloed of niks. Onbekend hoe vaak dit gebeurd, krijgen de resultaten niet terug.		Merkt geen verschil tussen de testen wanneer ze op andere temperatuur zijn bewaard. Het is nooit gevalideerd wat voor invloed de temperatuur heeft. Ze doen alleen positieve controle wanneer de testen gemaakt zijn.	
Ziet u ruimte voor verbetering ten opzichte van de TB-test?	Als een test weinig vals-positieven geeft, gebruiksvriendelijk is en langer houdbaar is, zodat je niet op de PD staat met een verlopen setje	Minder tijd om te maken, gevoeliger		Staat open voor iets nieuws, niet gevaarlijk voor de gezondheid, gebruiksvriendelijk, net zo gevoelig, minder vals-positieven. TB is vooral bij het aanmaken giftig. Interessant dat Combur nog zo gevoelig is. Vindt het niet heel duur. Geen tijdintensiviteit.	De Combur test zal veel tijd schelen, geen chemische stoffen en chemisch afval en meer, geen mensen die het elke maand moeten maken, design alleen nog niet heel gebruiksvriendelijk voor de FO. Dat het niet interfereert met het DNA is positief.
Wat zou er moeten gebeuren voor een verandering in het gebruik van indicatieve test?	Denkt niet dat er heel veel mensen zijn niet open staan voor veranderingen. Het moet gebruiksvriendelijk zijn. Combur beter voor op het lab, vanwege de betere omstandigheden	Het moet worden voorgesteld in het kwaliteitsnetwerk, het is een landelijk besluit. Het moet zijn gevalideerd. NFI kan zelf bepalen wat ze willen. De leverancier moet binnen de politie vallen.	Eerst bespreken in het kwaliteitsoverleg, er zijn 3 zuilen: DNA, dacty en verdovende middelen. Alle lagen zijn vertegenwoordigd in het kwaliteitsnetwerk: politie, politieacademie en NFI, één keer in de 6 tot 8 weken is er een overleg. Politie en het NFI valideren methodes apart van elkaar.	Als het NFI het valideert, kan de politie het gebruiken en als politie het valideert, zal NFI hun eigen validatie doen.	Als het NFI het valideert, kan de politie het gebruiken en als politie het valideert, zal NFI hun eigen validatie doen.
Vervangen of beide gebruiken?	Gepriegel met de Combur test om het padje deels uit het gaasje te duwen. Contaminatiegevoelig dat strips niet apart zitten	De KM-test kan handig zijn vanwege de roze kleur. Bij Combur vraagt zich af wat voor invloed het heeft op het DNA. Positief kleur-	Geen voorstander van twee testen gebruiken, dan weten mensen niet welke ze moeten pakken. Qua verkleuring is Combur duidelijker dan TB. Ze	Naast elkaar gebruiken niet, dan zit men nog steeds met al het afval en de chemicaliën	Naast elkaar gebruiken niet, dan zit men nog steeds met al het afval en de chemicaliën

	verpakt. Gunstig dat de KM-test weinig positieven heeft, maar niet dat hij minder gevoelig is.	verdunning-ratio, wel kans van contaminatie bij open maken potje, maar kan ook bij filtreerpapier TB Direct resultaat, niet toxisch, onderste padje allemaal positief. Geen filtreerpapiertje want wanneer die nat wordt door demiwater is het minder stevig. Combur zou op lastigere plekken kunnen komen zoals de binnenkant van een loop van een vuurwapen.	weet dat de Combur test een aantal jaren terug ook is aangedragen door FO eenheid Midden-Nederland. Is toen doodgebloed. Met bijvoorbeeld luminol kan het handig zijn vanwege z'n gevoeligheid.		

9.2 Bijlage 2: het kostenplaatje

In het interview bij FO eenheid Amsterdam is er informatie verkregen over de kosten van de tetrabasetest. De tetrabase oplossing wordt gemaakt door 1,5 gram tetrabase 98% in poedervorm te mengen met 30 ml azijnzuur 99,5% en 270 ml gedestilleerd water. De bariumperoxide oplossing wordt gemaakt door 15 gram bariumperoxide 95% in poedervorm te mengen met 30 ml azijnzuur 99% en met 270 ml gedestilleerd water. Met deze hoeveelheden kunnen er zowel van de tetrabase als van de bariumperoxide 23 druppelflesjes worden gemaakt met een hoeveelheid van 25 ml per stuk. Dit is genoeg voor één maand voor de FO eenheid Amsterdam.

Tetrabase wordt aangeschaft in poedervorm in een 100 gram pot, welke €42,- kost.
Azijnzuur wordt aangeschaft in vloeibare vorm in een 1 liter fes, welke €50,60 kost.
Bariumperoxide wordt aangeschaft in poedervorm in een 500 gram pot, welke €76,80 kost.

Dit houdt in dat de kosten voor het maken van de tetrabase oplossing zijn:
100 gram / 1,5 gram = 66,67
€42,- / 66,67 = €0,63
1 liter / 0,03 liter = 33,34
€50,60 / 33,34 = €15,18 +
€15,81

€15,81 voor 23 flesjes is de maandelijkse prijs van de tetrabase oplossing goed voor 21 flesjes.

Dit houdt in dat de kosten voor het maken van de bariumperoxide oplossing zijn:
500 gram / 15 gram = 33,34
€76,80 / 33,34 = €2,30
1 liter / 0,03 liter = 33,34
€50,60 / 33,34 = €15,18 +
€17,48

€17,48 voor 23 flesjes is de maandelijkse prijs van de bariumperoxide oplossing goed voor 21 flesjes.

In het interview bij FO Krimpen aan den IJssel bleek ook dat alle druppelflesjes worden weggegooid en er elke maand nieuwe worden aangeschaft. De prijs hiervoor is onbekend.

Er worden 25 ml druppelflesjes gebruikt. Flesjes met een inhoud van 25 ml lijken niet te bestaan. Op willekeurige sites is gezocht naar de kosten van deze flesjes en is gekozen voor de meest gunstige prijzen. Druppelflesjes van 30 ml kosten bijvoorbeeld 0,53 per stuk of 0,47 voor 1000 stuks [55]. Op een andere site kosten deze flesjes 1,32 per stuk of 0,82 voor 1000 stuks [56].
Er kan vanuit worden gegaan dat er minstens €0,40 cent bij de prijs komt van één flesje.

€15,81 voor tetrabase oplossing goed voor 21 flesjes.
€0,80 * 21 = €16,80 +
€32,61

€17,48 voor bariumperoxide oplossing goed voor 21 flesjes.
€0,80 * 21 = €16,80 +
€34,28

Ervan uitgaande dat er per test 1 druppel wordt gebruikt, welke een hoeveelheid heeft van 0,04 ml:

- De flesjes tetrabasetest hebben een gezamenlijke hoeveelheid van 300 ml.
- De flesjes bariumperoxide hebben een gezamenlijke hoeveelheid van 300 ml.

300 ml / 0,04 ml = 7500 druppels per test.

Dit houdt in dat er €32,61 + €34,28 = €66,89 wordt gespendeerd aan 7500 tests, waarbij de kosten van het gedestilleerd water zijn verwaarloosd.

€66,89 / 7500 testen = €0,009 per uitgevoerde tetrabasetest.

Het filtreerpapier wat wordt gebruikt, is van het merk Whatman. Dit is filtreerpapier in de vorm van een cirkel. Dit papier is 3,4 mm dik en 2,5 cm in doorsnede. In de verpakking zitten 100 filtreerpapiertjes. Dit papier kost op de site van fisher €13,08 [57].
De kosten voor één filtreerpapiertje zijn hierdoor €0,13.

€0,009 + €0,13 +
€0,14 per uitgevoerde TB-test

Voor de Combur test liggen de kosten lager, een set van 50 strips kost €10,90.

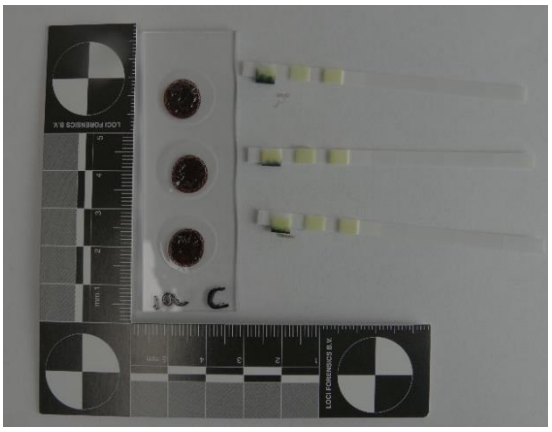
€10,90 / 50 = €0,073 per uitgevoerde Combur test.

Bovendien moet er voor het maken van de TB-test een werknemer voor een dag of dagdeel worden ingezet, dit zal verschillen per eenheid. Bij FO eenheid Amsterdam kost dit een dagdeel aan tijd. Deze werknemer dient betaald te worden voor zijn werkzaamheden. De kosten hierin zullen verschillen, afhankelijk van de functie en schaal waarin deze werknemer zijn werkzaamheden uitvoert. Deze kosten zijn hierdoor variabel en onbekend. De kosten van de TB-test liggen hierdoor nog hoger dan de kosten van de Combur test.

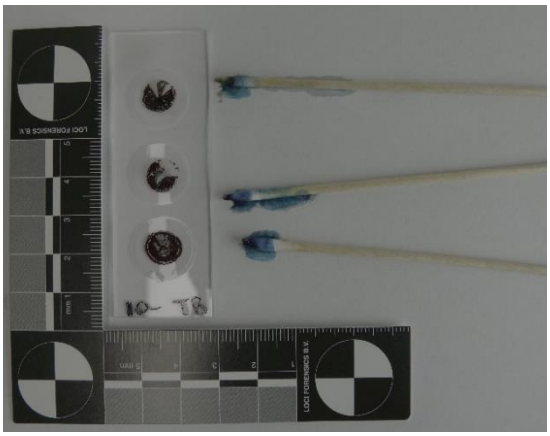
9.3 Bijlage 3: de fotobijlage

De foto's in de fotobijlage zijn gesorteerd op deelonderzoek, beginnend bij deelonderzoek 1 en eindigend bij deelonderzoek 8.

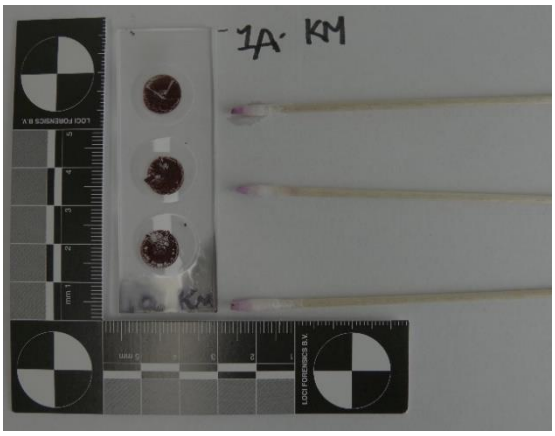
9.3.1 Deelonderzoek 1: de stabiliteit over tijd van de testen



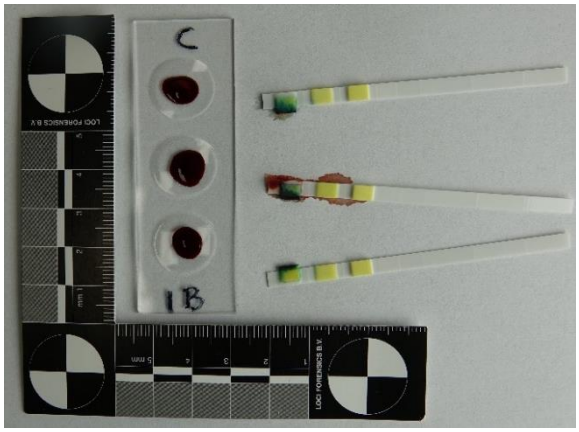
Afbeelding 1: vers volbloed getest door de Combur test op 13 november.



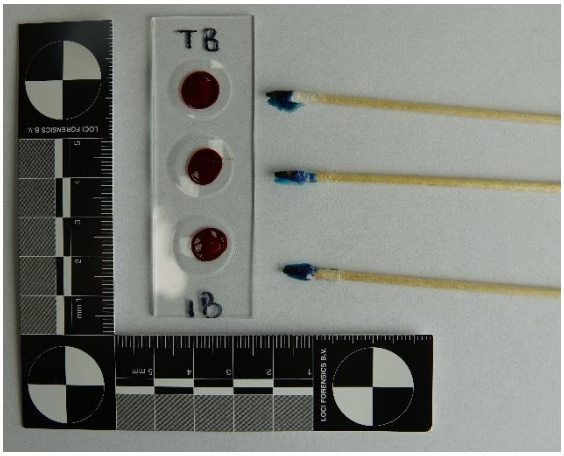
Afbeelding 2: vers volbloed getest door de TB-test op 13 november.



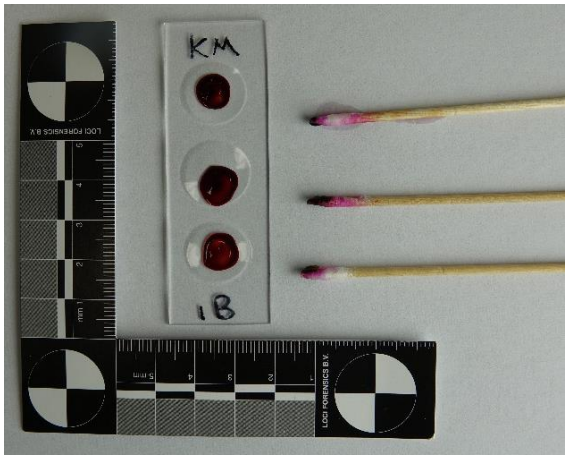
Afbeelding 3: vers volbloed getest door de KM-test op 13 november.



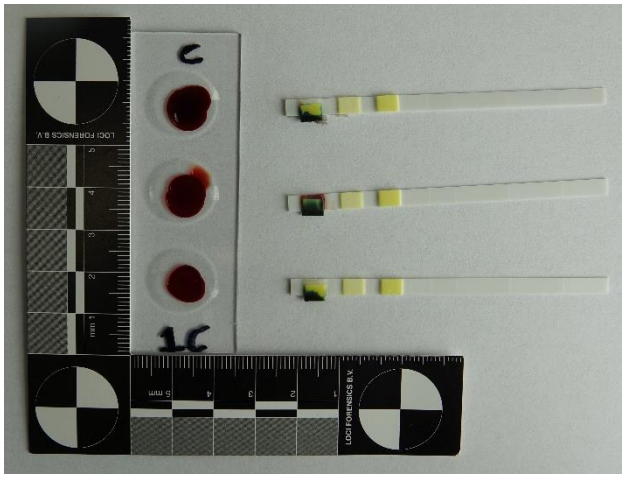
Afbeelding 4: vers volbloed getest door de Combur test op 19 november.



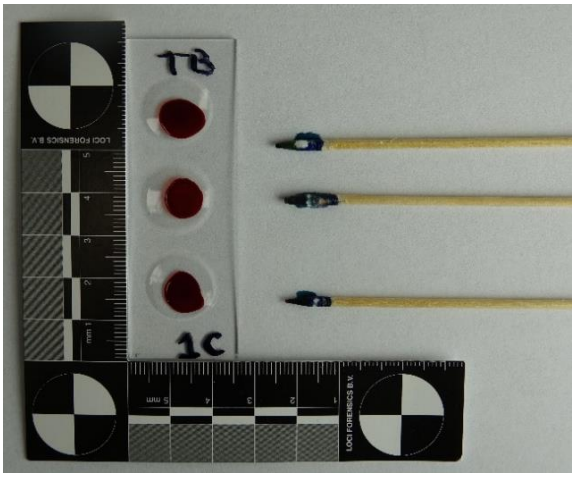
Afbeelding 5: vers volbloed getest door de TB-test op 19 november.



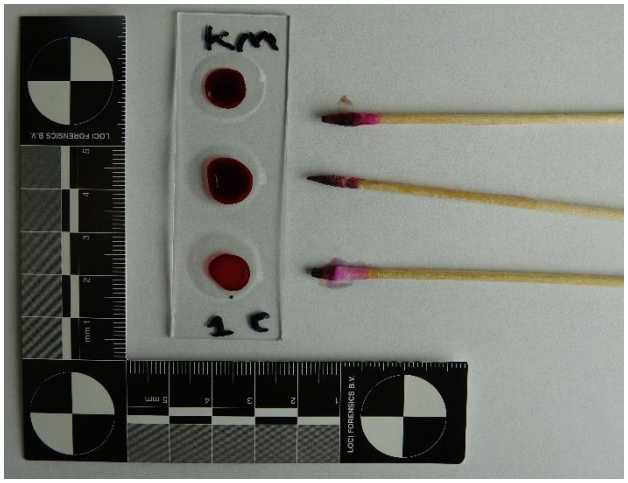
Afbeelding 6: vers volbloed getest door de KM-test op 19 november.



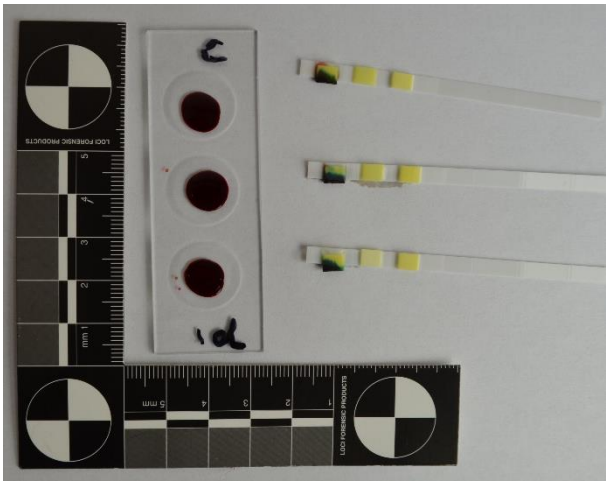
Afbeelding 7: vers volbloed getest door de Combur test op 22 november.



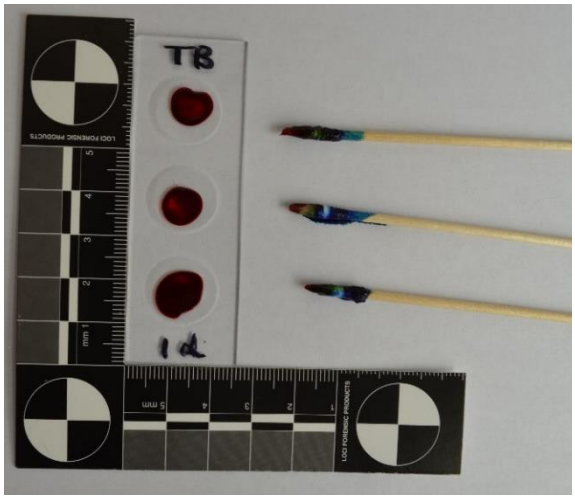
Afbeelding 8: vers volbloed getest door de TB-test op 22 november.



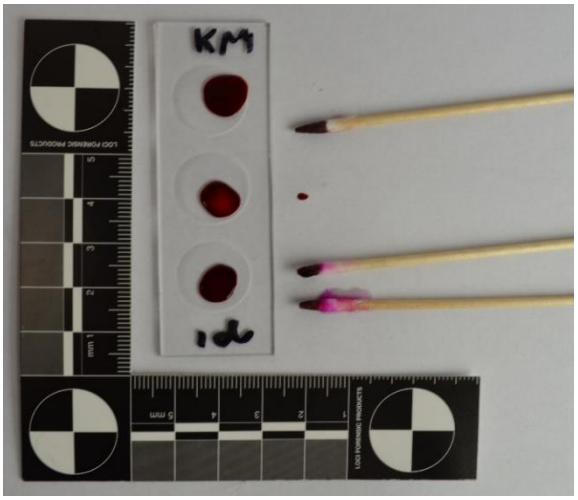
Afbeelding 9: vers volbloed getest door de KM-test op 22 november.



Afbeelding 10: vers volbloed getest door de Combur test op 26 november.

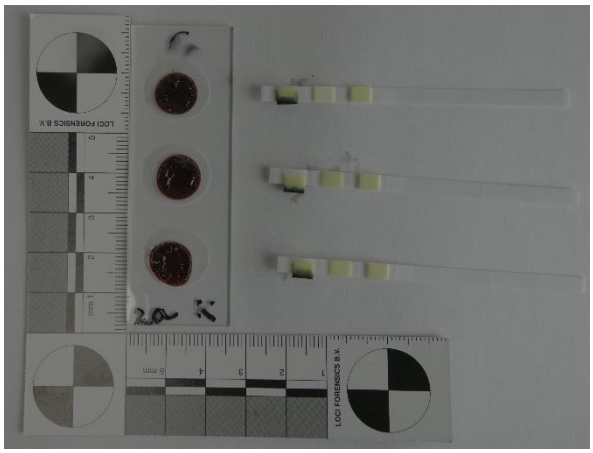


Afbeelding 11: vers volbloed getest door de TB-test op 26 november.

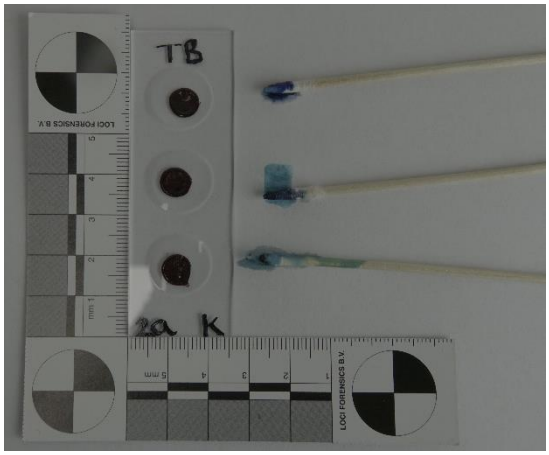


Afbeelding 12: vers volbloed getest door de KM-test op 26 november.

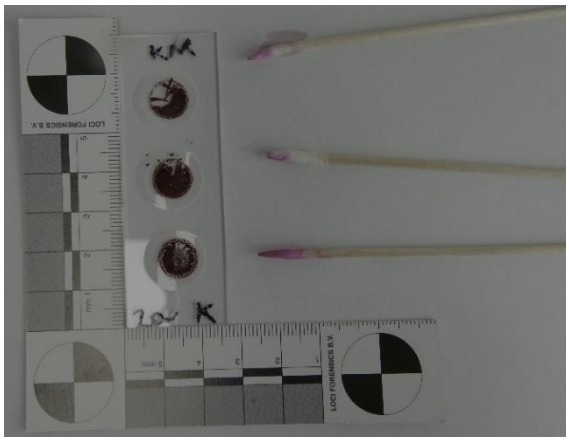
9.3.2 Deelonderzoek 2: de stabiliteit over temperatuur van de testen



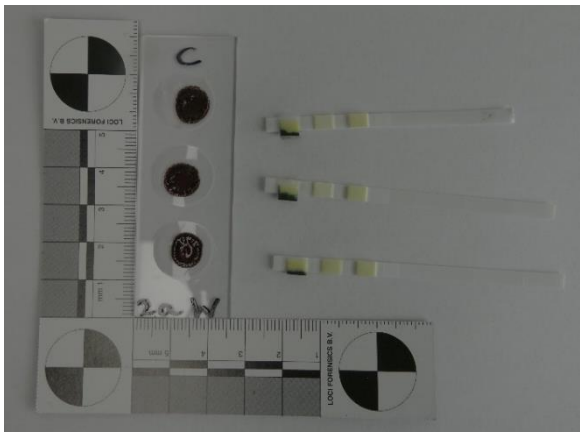
Afbeelding 13: vers volbloed getest met een voor 24 uur op 3 °C bewaarde Combur test.



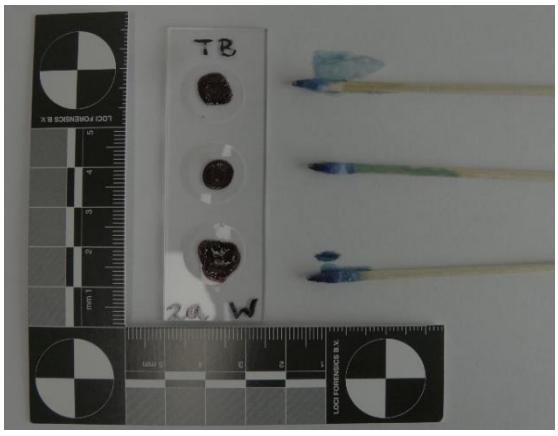
Afbeelding 14: vers volbloed getest met een op 3 °C bewaarde TB-test.



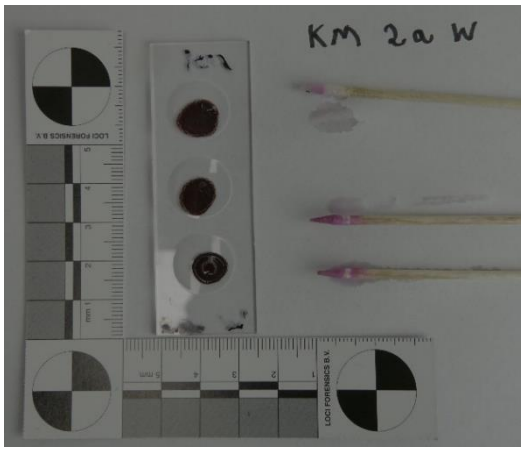
Afbeelding 15: vers volbloed getest met een voor 24 uur op 3 °C bewaarde KM-test.



Afbeelding 16: vers volbloed getest met een Combur test, bewaard op kamertemperatuur 22 °C.

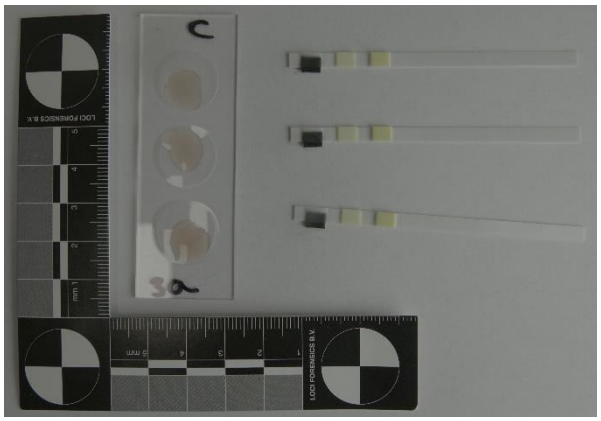


Afbeelding 17: vers volbloed getest met een voor 24 uur op kamertemperatuur 22 °C bewaarde TB-test.

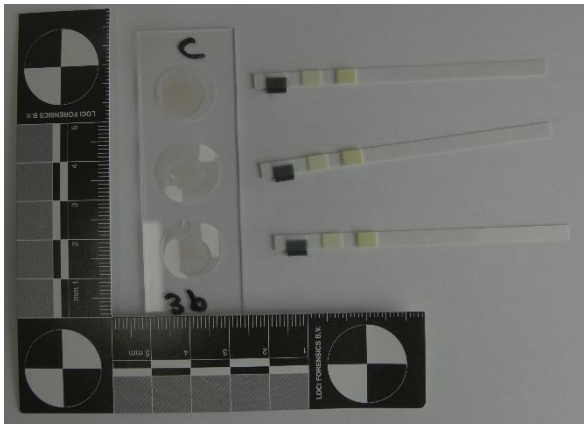


Afbeelding 18: vers volbloed getest met een KM-test, bewaard op kamertemperatuur 22 °C

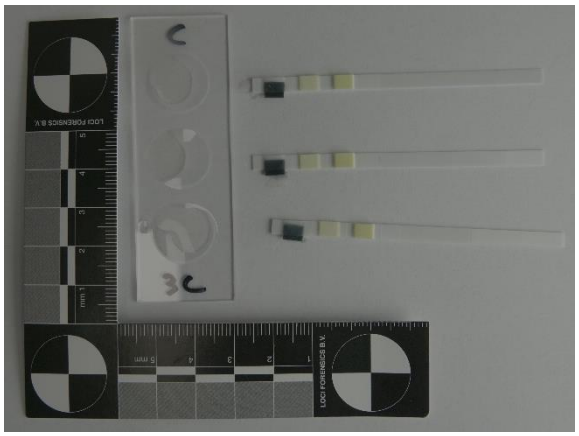
9.3.3 Deelonderzoek 3: de detectiegrens bepaald over bloedverdunningen



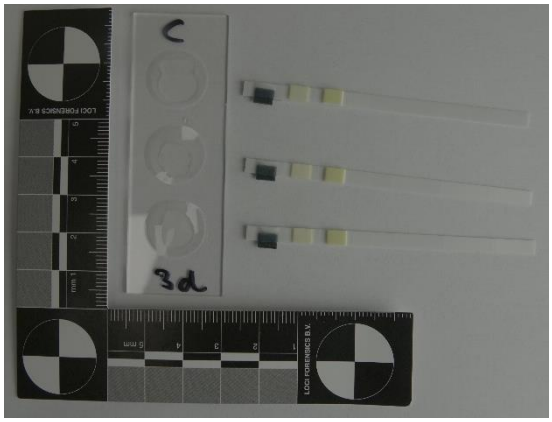
Afbeelding 19: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:50, getest met de Combur test.



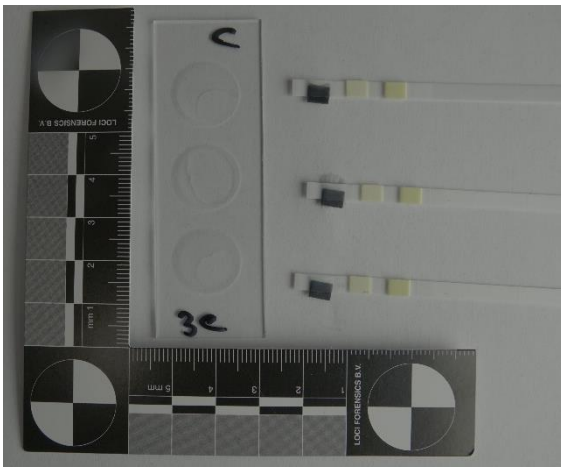
Afbeelding 20: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:100, getest met de Combur test.



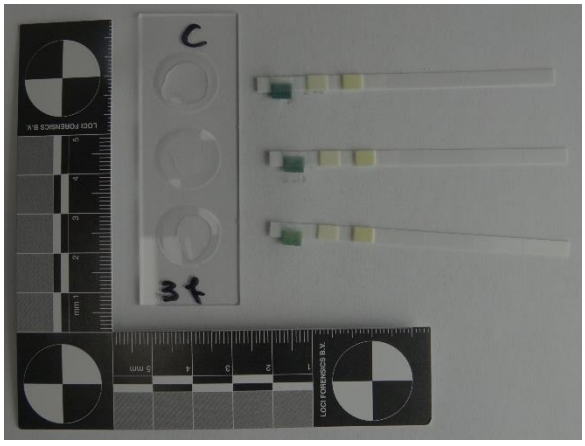
Afbeelding 21: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:500, getest met de Combur test.



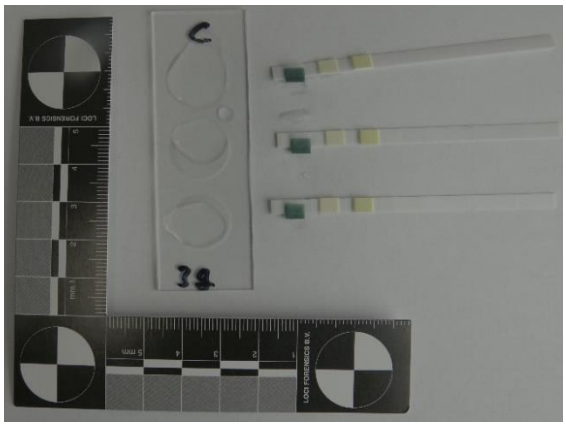
Afbeelding 22: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1000, getest met de Combur test.



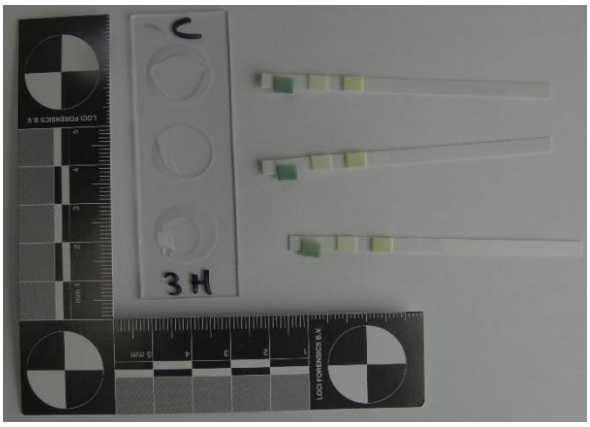
Afbeelding 23: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de Combur test.



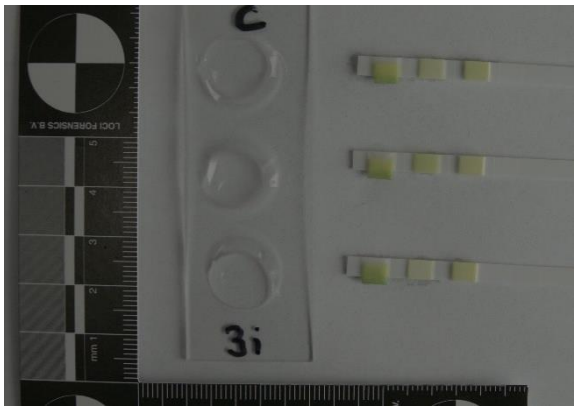
Afbeelding 24: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:10.000, getest met de Combur test.



Afbeelding 25: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:15.000, getest met de Combur test.

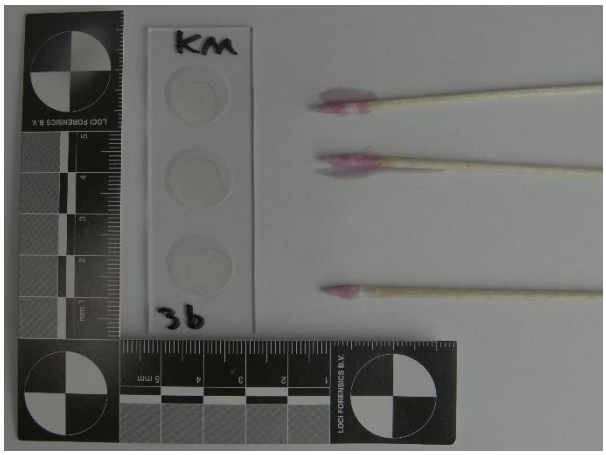


Afbeelding 26: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:20.000, getest met de Combur test.

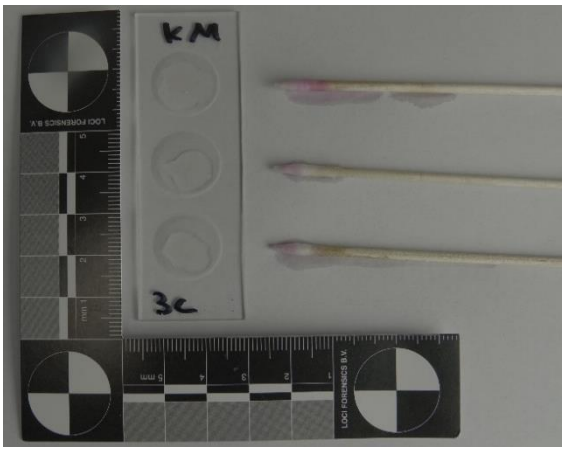


Afbeelding 27: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:50.000, getest met de Combur test.

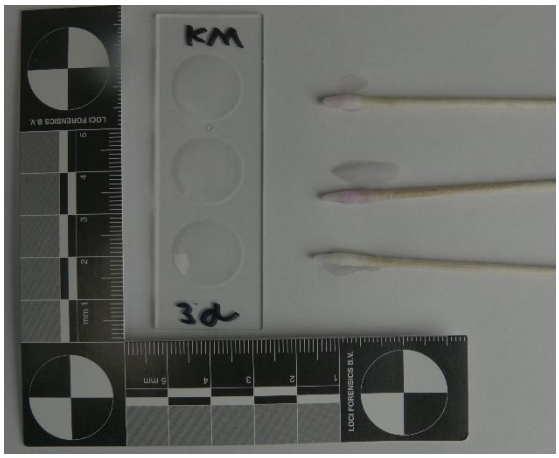
Afbeelding 28: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:50, getest met de KM-test.



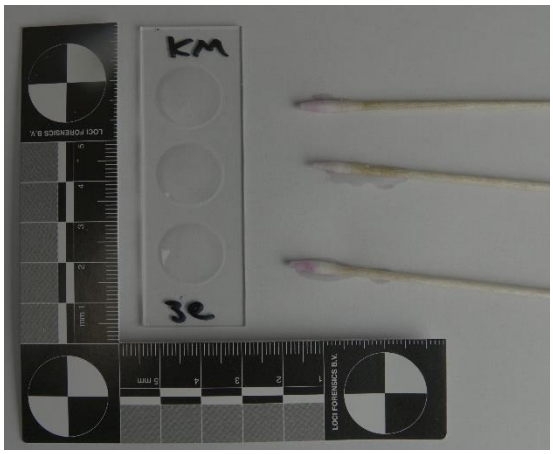
Afbeelding 29: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:100, getest met de KM-test.



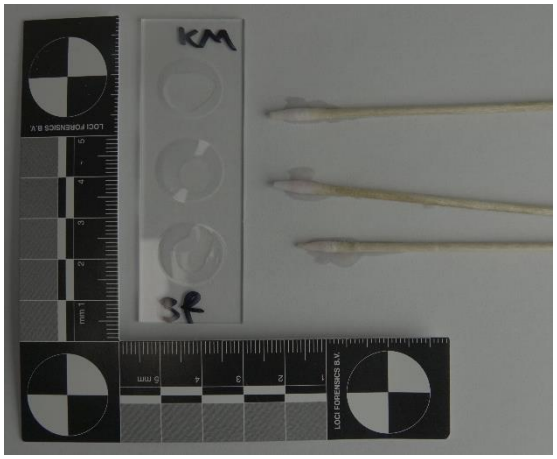
Afbeelding 30: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:500, getest met de KM-test.



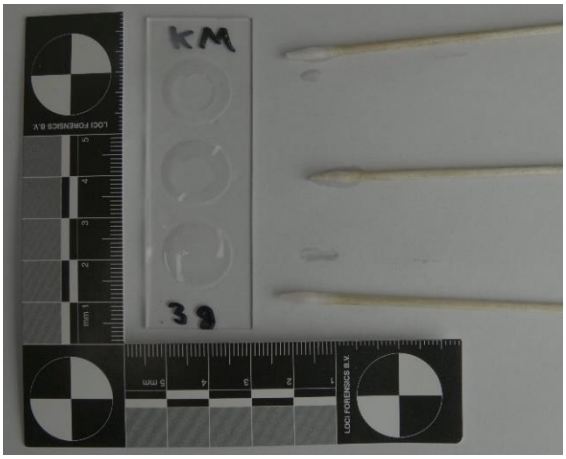
Afbeelding 31: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1000, getest met de KM-test.



Afbeelding 32: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de KM-test.

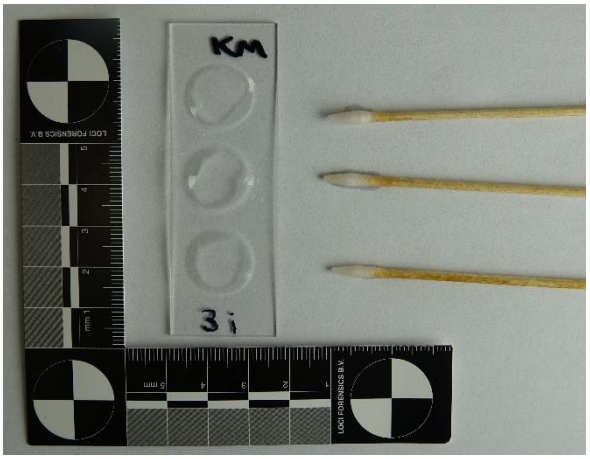


Afbeelding 33: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:10.000, getest met de KM-test.

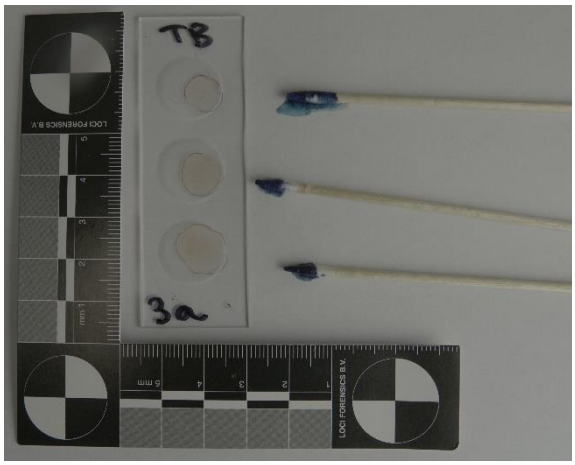


Afbeelding 34: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:15.000, getest met de KM-test.

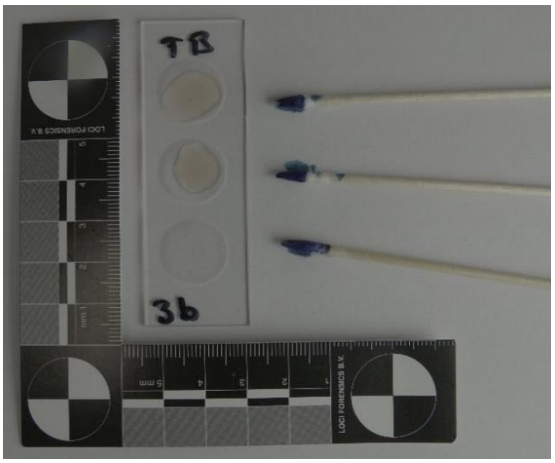
Afbeelding 35: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:20.000, getest met de KM-test.



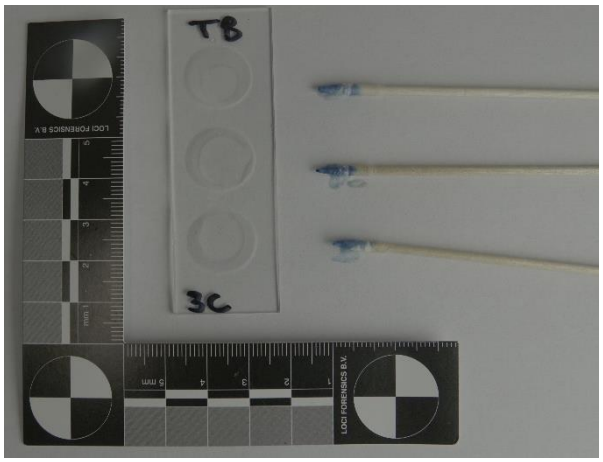
Afbeelding 36: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:50.000, getest met de KM-test.



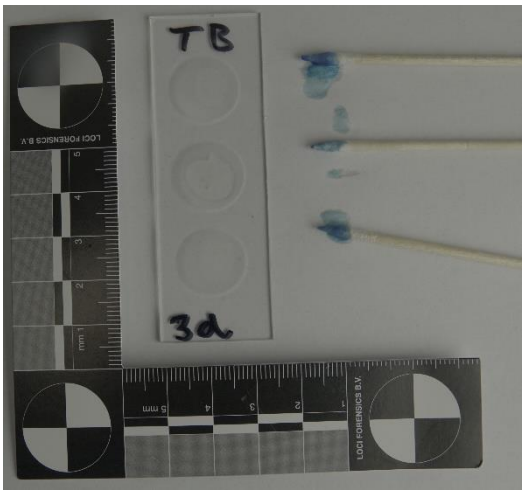
Afbeelding 37: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:50, getest met de TB-test.



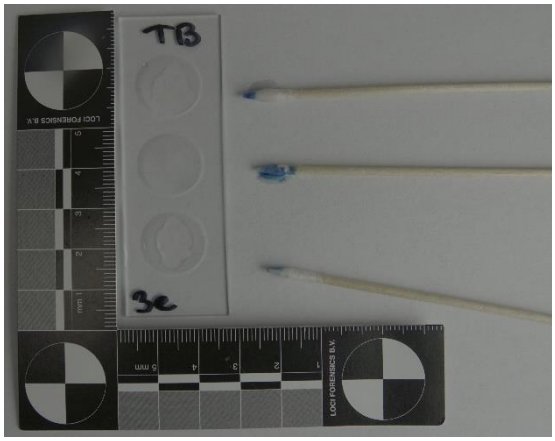
Afbeelding 38: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:100, getest met de TB-test.



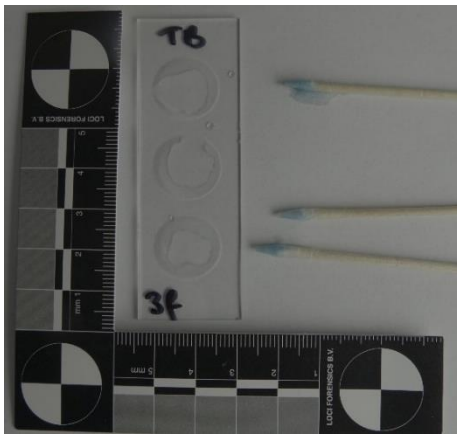
Afbeelding 39: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:500, getest met de TB-test.



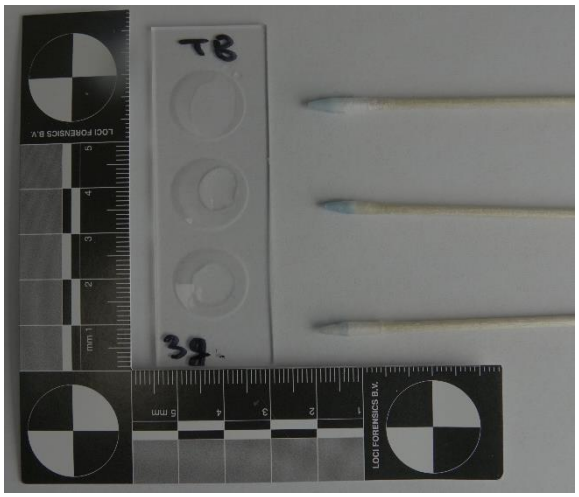
Afbeelding 40: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1000, getest met de TB-test.



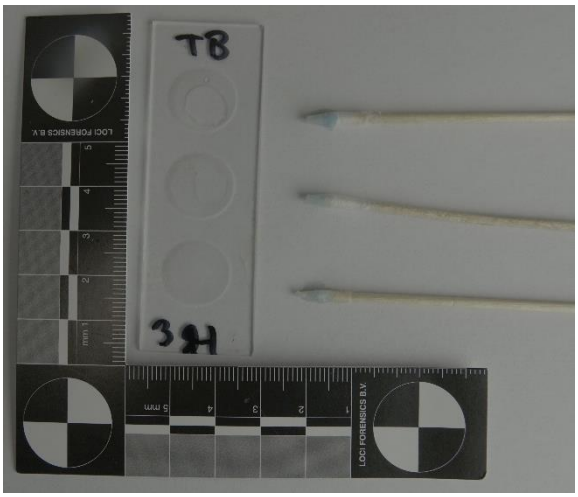
Afbeelding 41: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de TB-test.



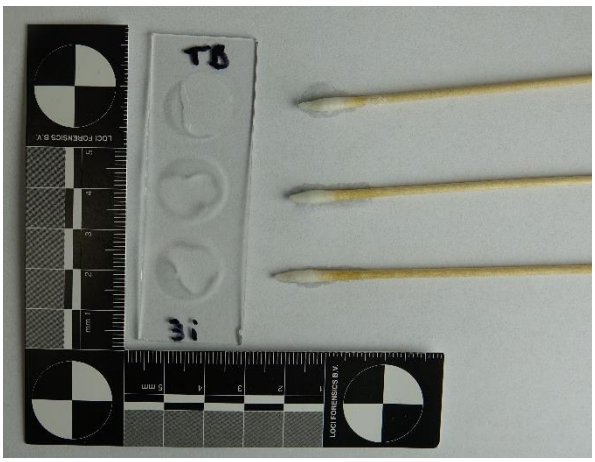
Afbeelding 42: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:10.000, getest met de TB-test.



Afbeelding 43: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:15.000, getest met de TB-test.

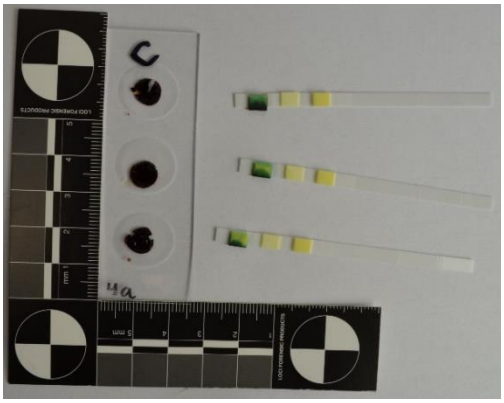


Afbeelding 44: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:20.000, getest met de TB-test.

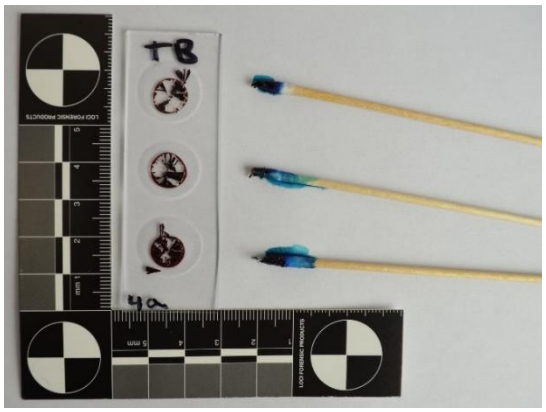


Afbeelding 45: vers bloed in een verdunning met demiwater van 1:50.000, getest met de TB-test.

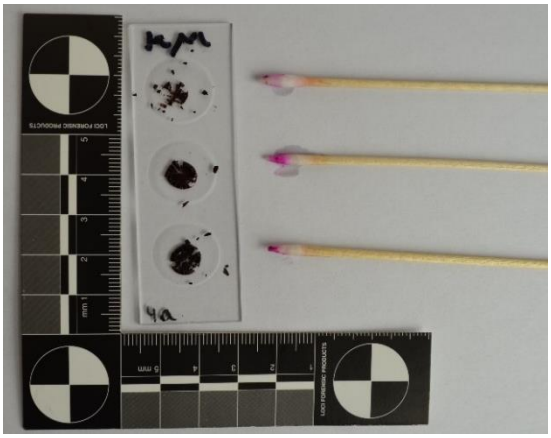
9.3.4 Deelonderzoek 4: de detectiegrens bepaald over ouderdom van het bloed



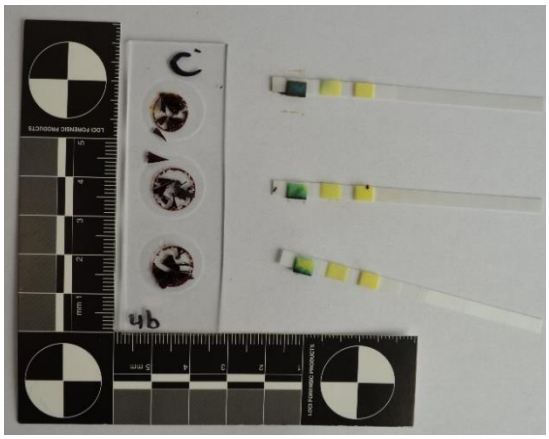
Afbeelding 46: volbloed wat 3 weken is opgedroogd aan de lucht, getest met de Combur test.



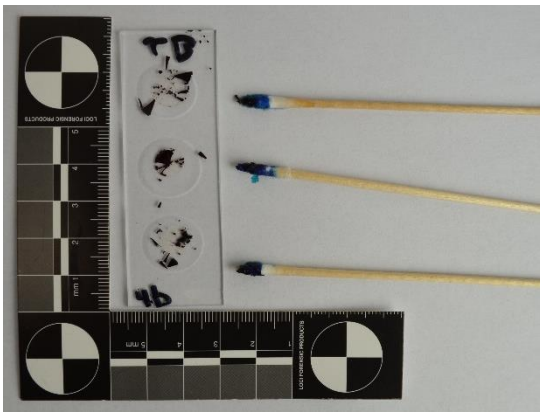
Afbeelding 47: volbloed wat 3 weken is opgedroogd aan de lucht, getest met de TB-test.



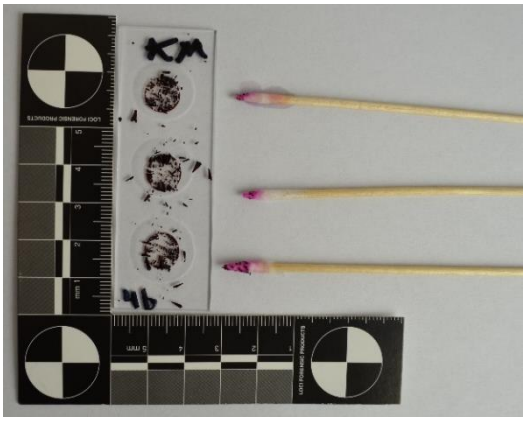
Afbeelding 48: volbloed wat 3 weken is opgedroogd aan de lucht, getest met de KM-test.



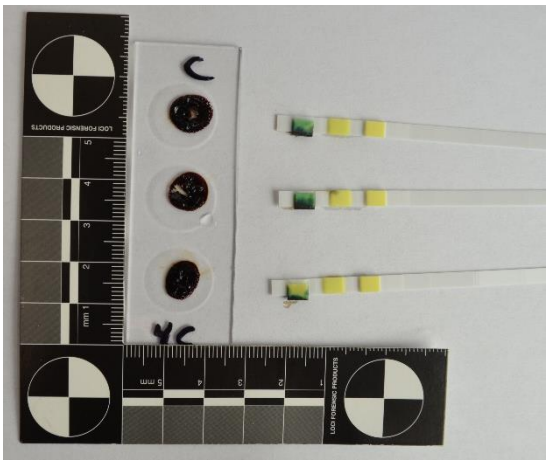
Afbeelding 49: volbloed wat 2 weken is opgedroogd aan de lucht, getest met de Combur test.



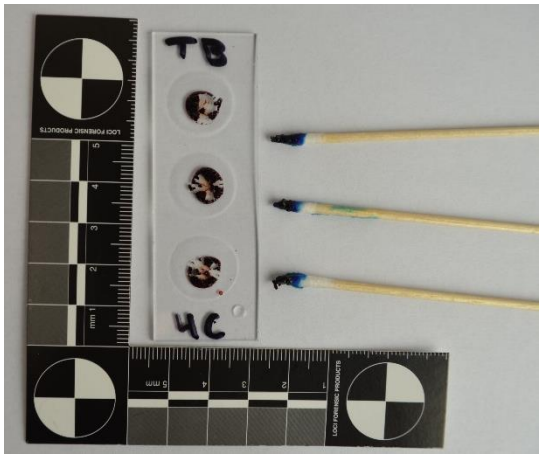
Afbeelding 50: volbloed wat 2 weken is opgedroogd aan de lucht, getest met de TB-test.



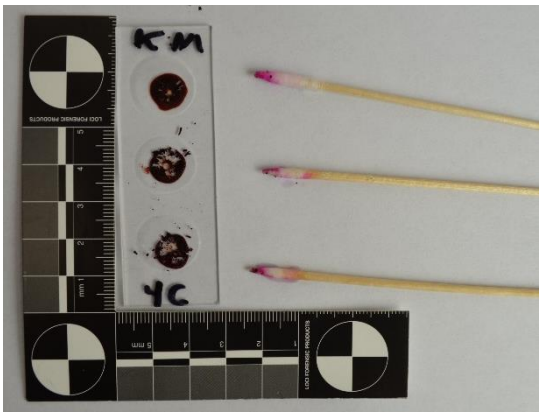
Afbeelding 51: volbloed wat 2 weken is opgedroogd aan de lucht, getest met de KM-test.



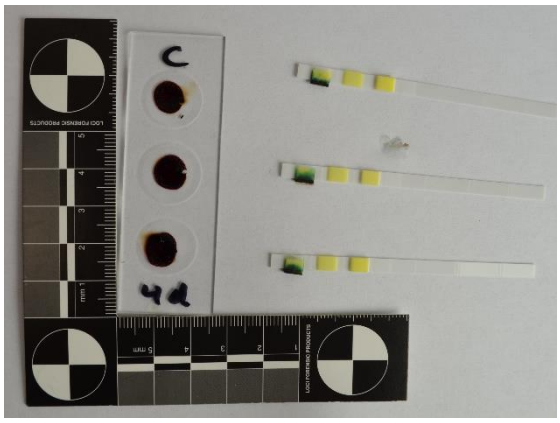
Afbeelding 52: volbloed wat 8 dagen is opgedroogd aan de lucht, getest met de Combur test.



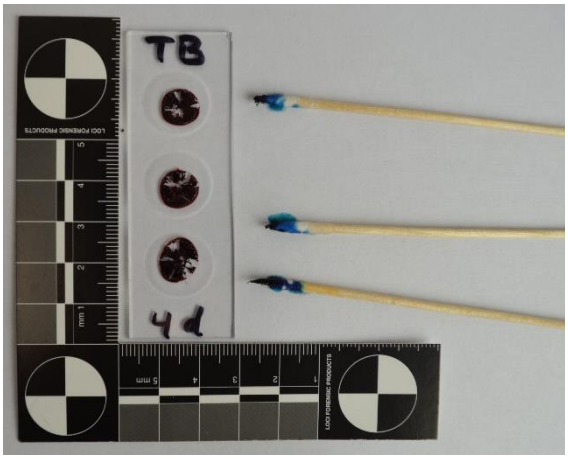
Afbeelding 53: volbloed wat 8 dagen is opgedroogd aan de lucht, getest met de TB-test.



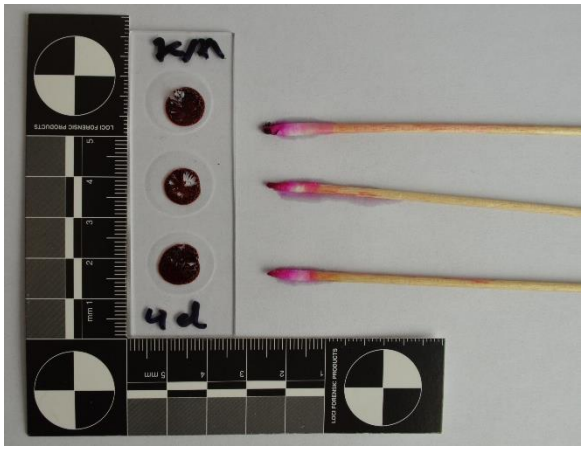
Afbeelding 54: volbloed wat 8 dagen is opgedroogd aan de lucht, getest met de KM-test.



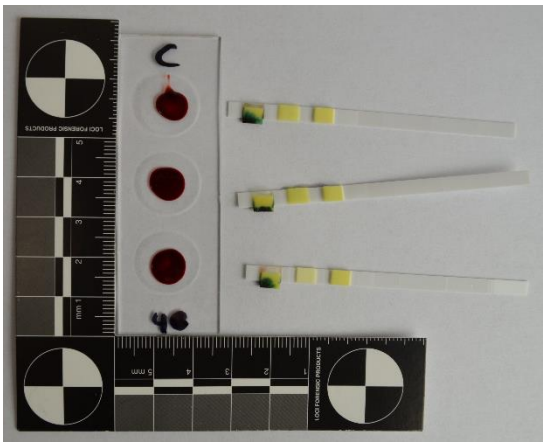
Afbeelding 55: volbloed wat 4 dagen is opgedroogd aan de lucht, getest met de Combur test.



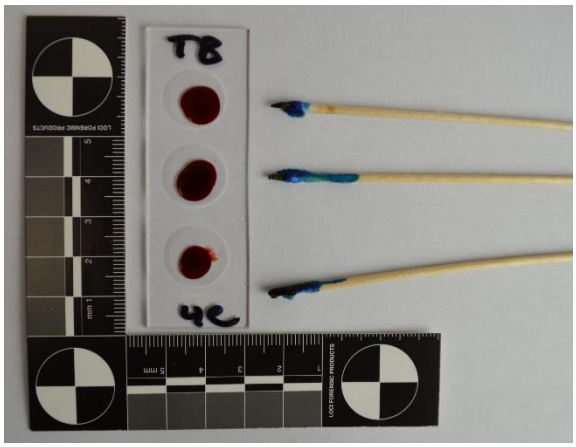
Afbeelding 56: volbloed wat 4 dagen is opgedroogd aan de lucht, getest met de TB-test.



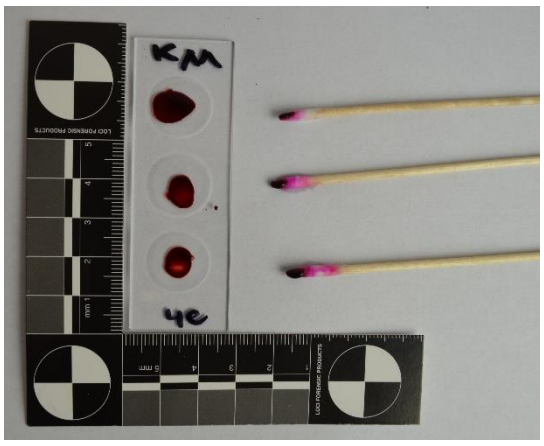
Afbeelding 57: volbloed wat 4 dagen is opgedroogd aan de lucht, getest met de KM-test.



Afbeelding 58: vers volbloed wat 1 uur is opgedroogd aan de lucht, getest met de Combur test.

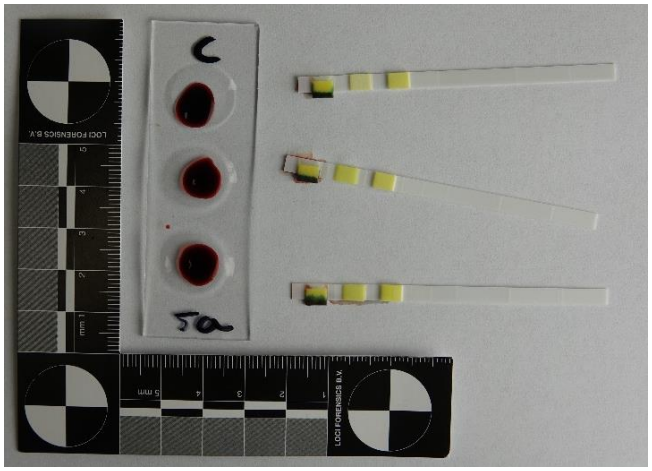


Afbeelding 59: vers volbloed wat 1 uur is opgedroogd aan de lucht, getest met de TB-test.

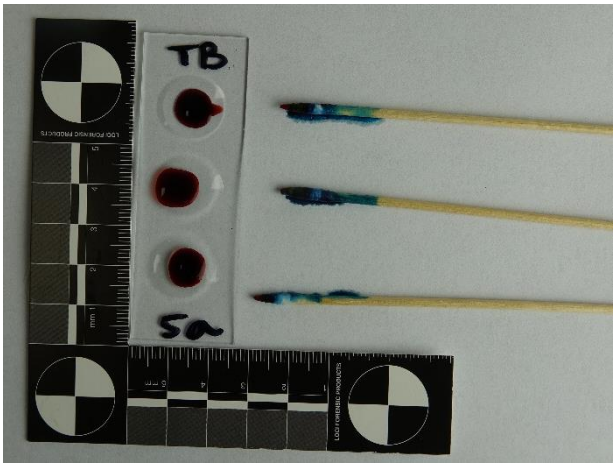


Afbeelding 60: vers volbloed wat 1 uur is opgedroogd aan de lucht, getest met de KM-test.

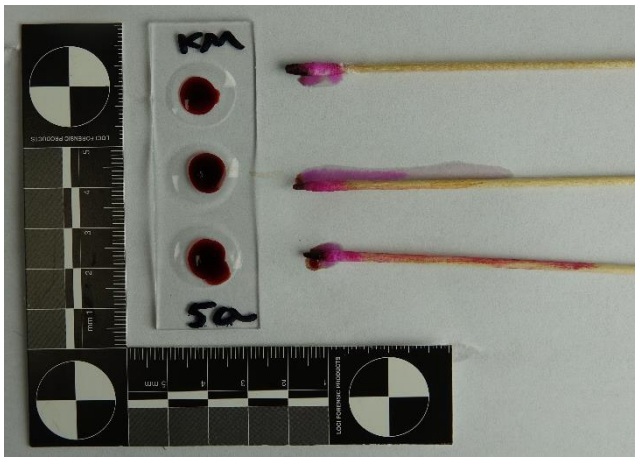
9.3.5 Deelonderzoek 5: de invloed van ondergronden op de testen onderling



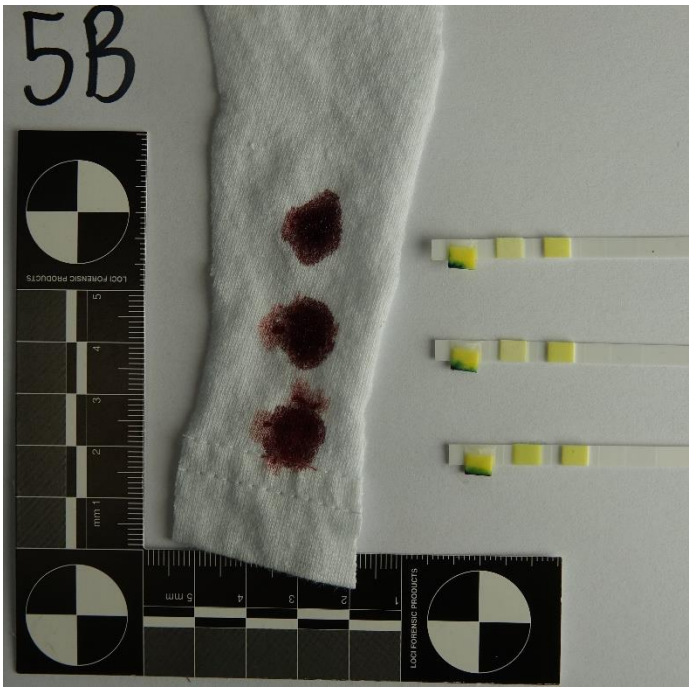
Afbeelding 61: vers volbloed op niet-poreuze ondergrond, getest met de Combur test.



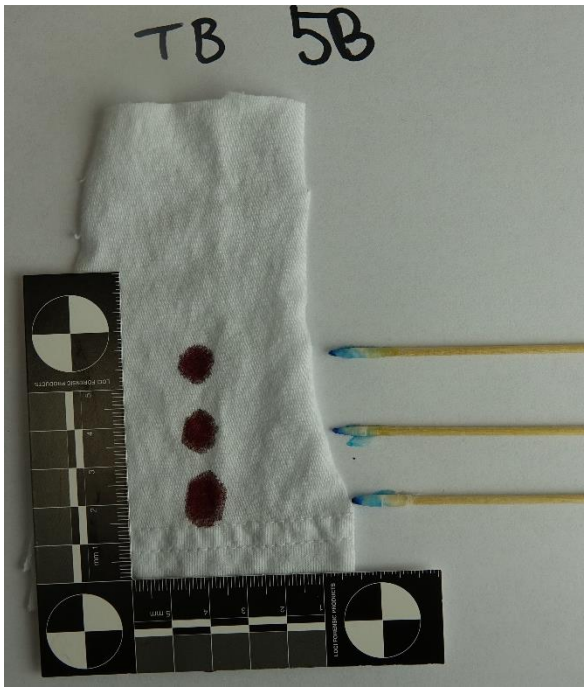
Afbeelding 62: vers volbloed op niet-poreuze ondergrond, getest met de TB-test.



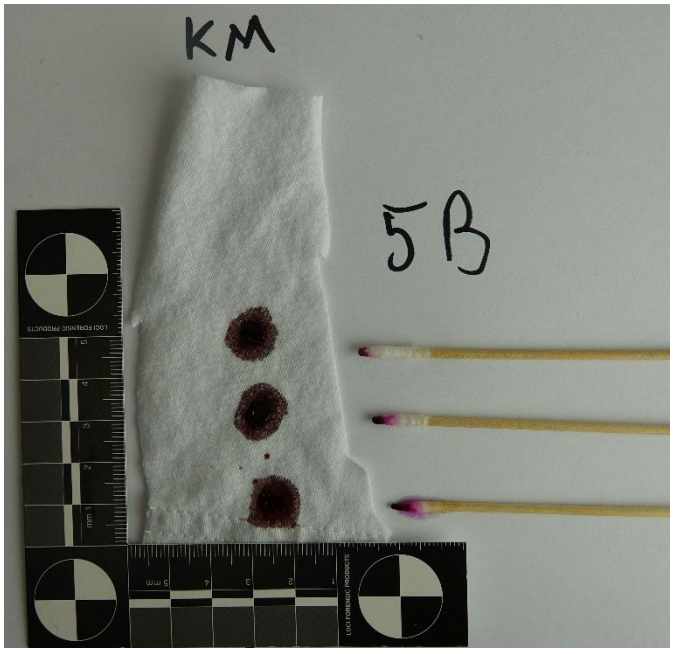
Afbeelding 63: vers volbloed op niet-poreuze ondergrond, getest met de KM-test.



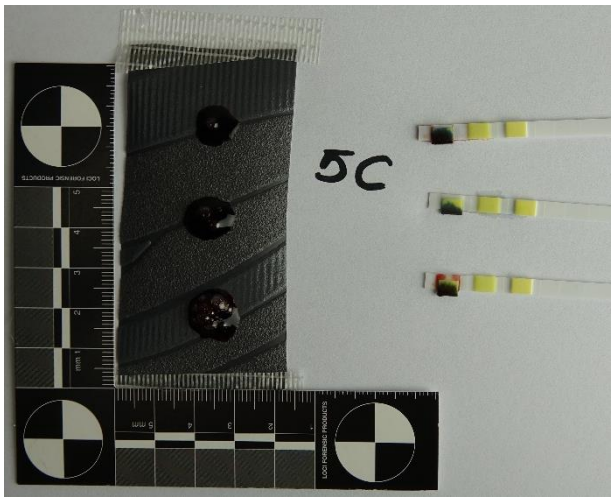
Afbeelding 64: vers volbloed op poreuze ondergrond, getest met de Combur test.



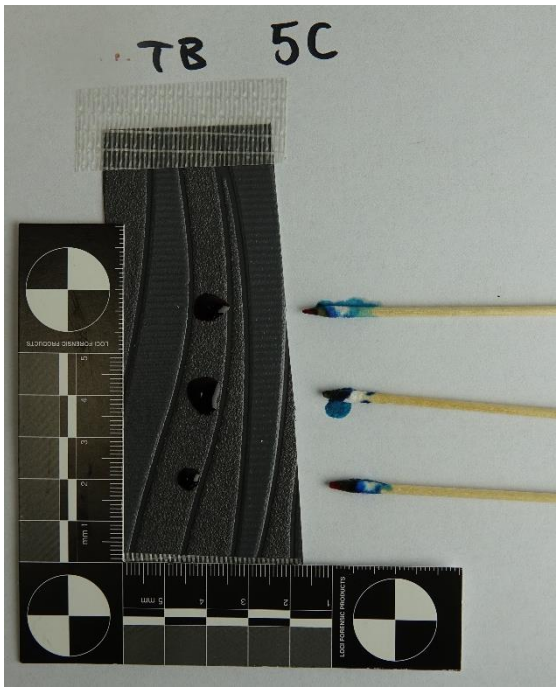
Afbeelding 65: vers volbloed op poreuze ondergrond, getest met de TB-test.



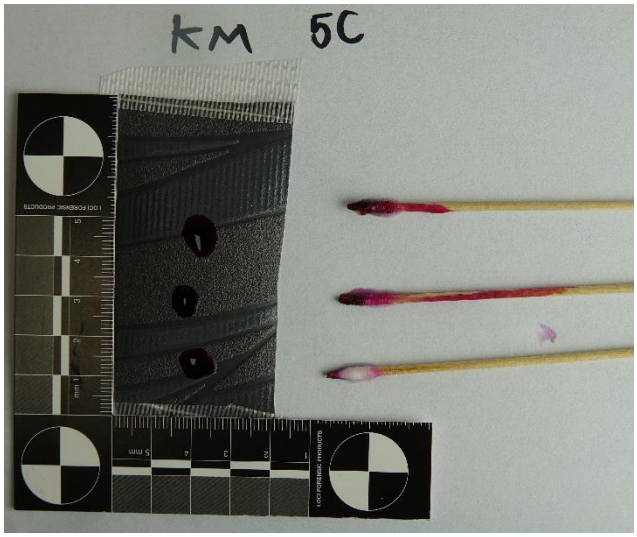
Afbeelding 66: vers volbloed op poreuze ondergrond, getest met de KM-test.



Afbeelding 67: vers volbloed op een semi-poreuze ondergrond, getest met de Combur test.

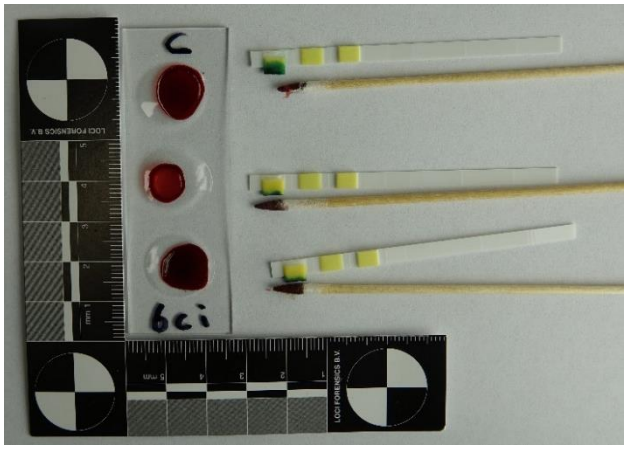


Afbeelding 68: vers volbloed op een semi-poreuze ondergrond, getest met de TB-test.

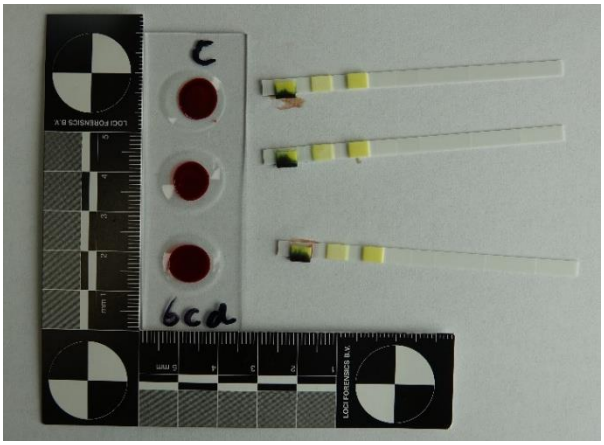


Afbeelding 69: vers volbloed op een semi-poreuze ondergrond, getest met de KM-test.

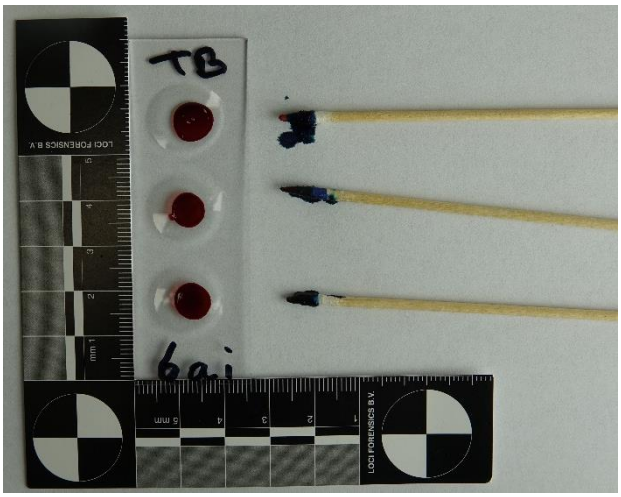
9.3.6 Deelonderzoek 6: de invloed van direct- of indirect testen



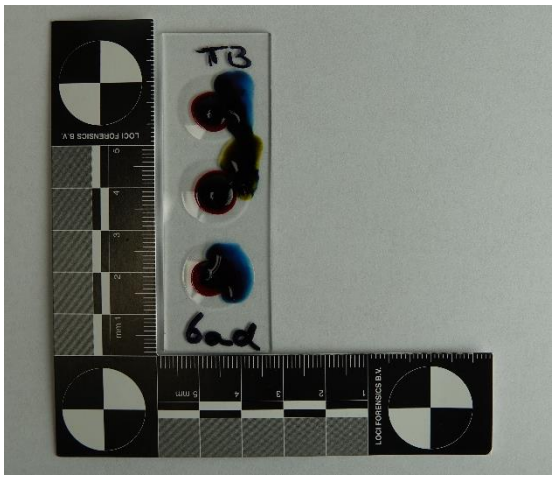
Afbeelding 70: vers volbloed indirect getest met de Combur test.



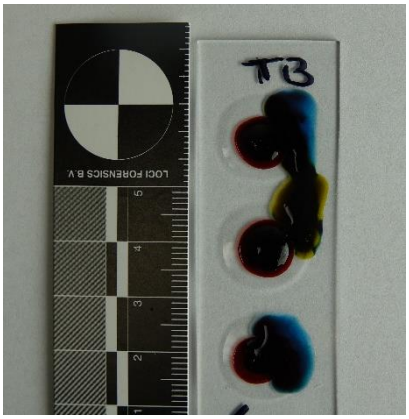
Afbeelding 71: vers volbloed direct getest met de Combur test.



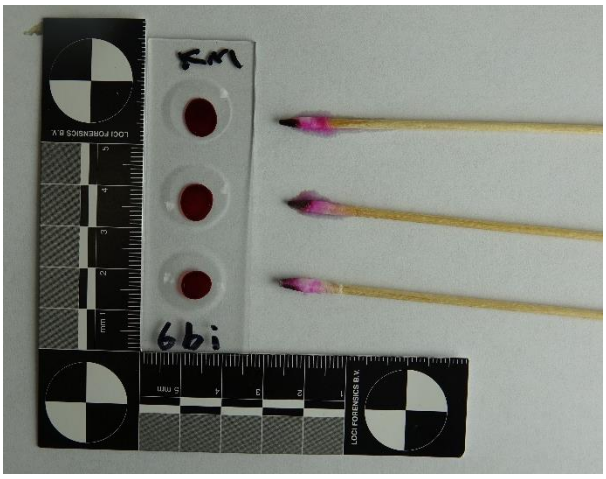
Afbeelding 72: vers volbloed indirect getest met de TB-test.



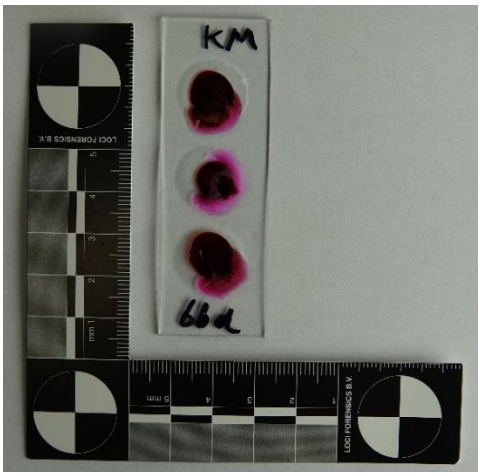
Afbeelding 73: vers volbloed direct getest met de TB-test. Er is zijn twee blauwe en één gele verkleuring ontstaan.



Afbeelding 74: Close-up van afbeelding 73, de twee blauwe en de enkele gele verkleuring.

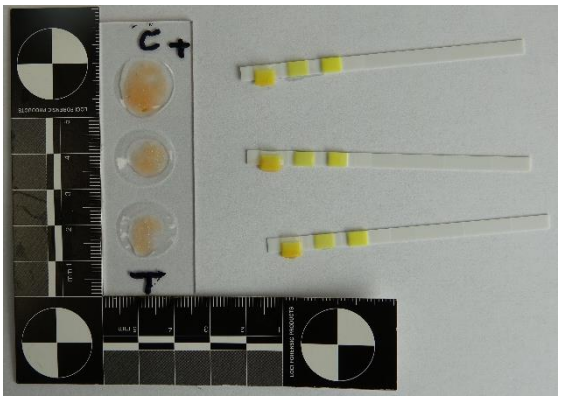


Afbeelding 75: vers volbloed indirect getest met de KM-test.

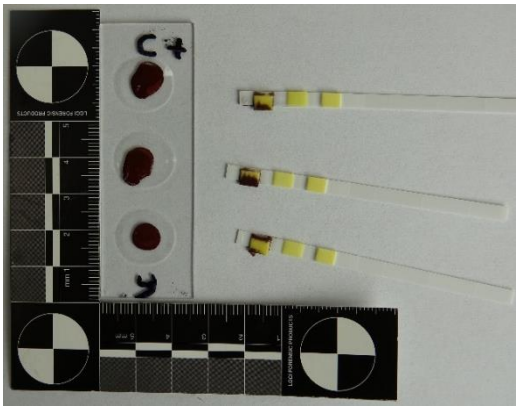


Afbeelding 76: vers volbloed direct getest met de KM-test.

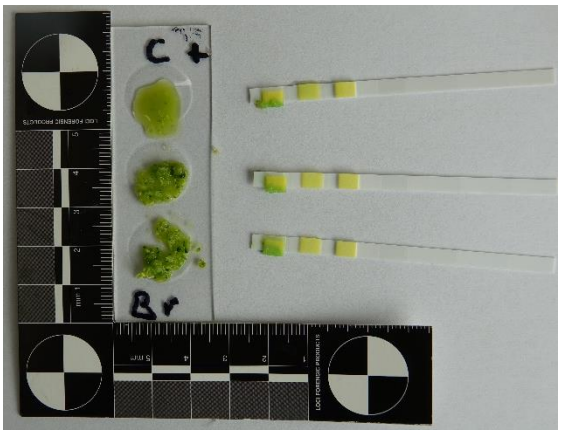
9.3.7 Deelonderzoek 7: vals-positieven en vals-negatieven



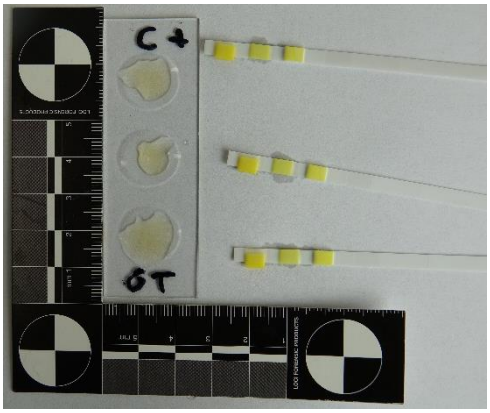
Afbeelding 77: tomaat als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



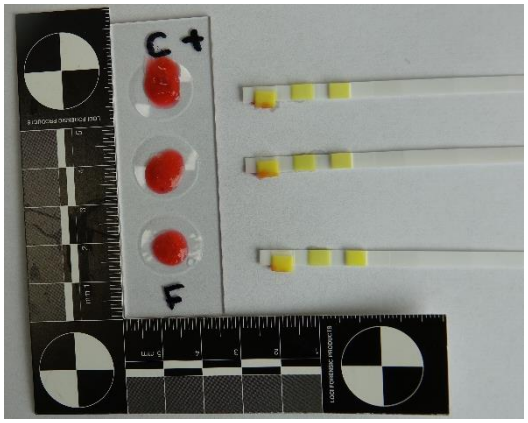
Afbeelding 78: vloeibare ijzeroxide als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



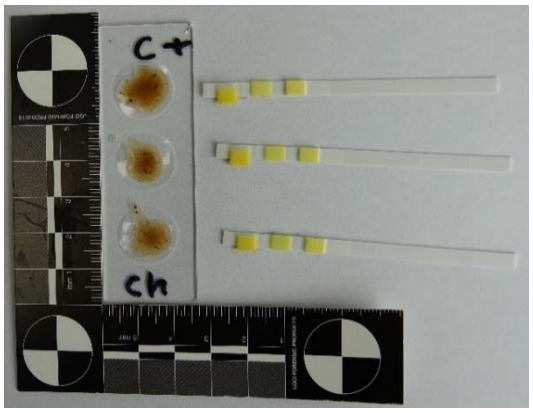
Afbeelding 79: broccoli als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



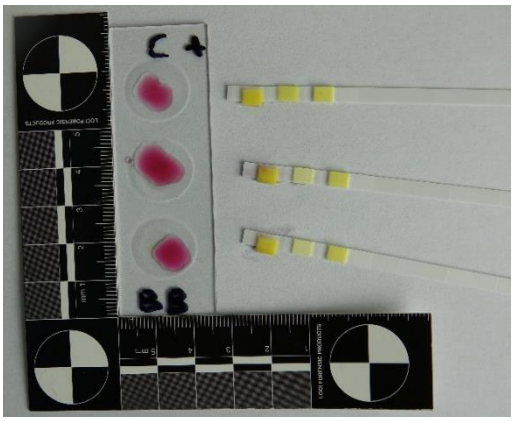
Afbeelding 80: groene thee als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



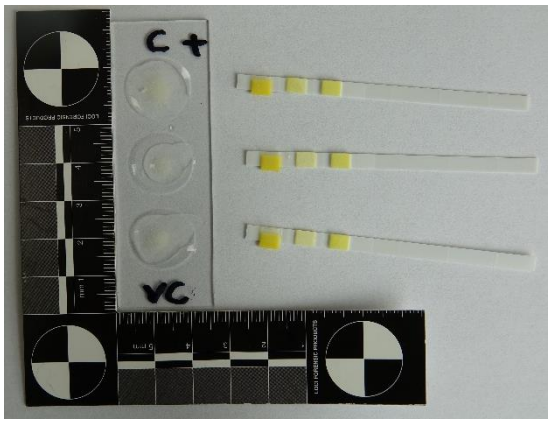
Afbeelding 81: framboos als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



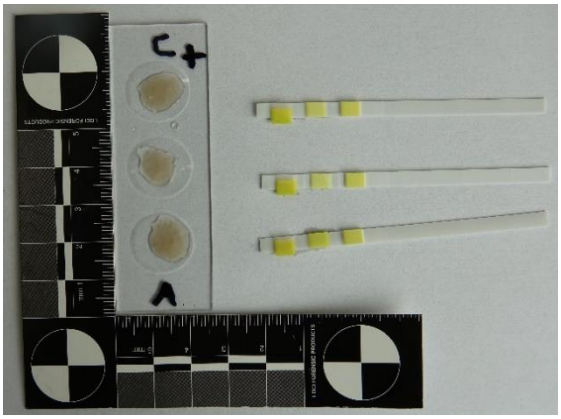
Afbeelding 82: 78% pure chocolade als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



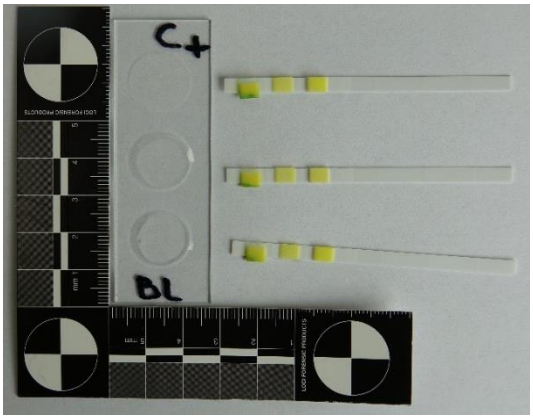
Afbeelding 83: blauwe bes als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



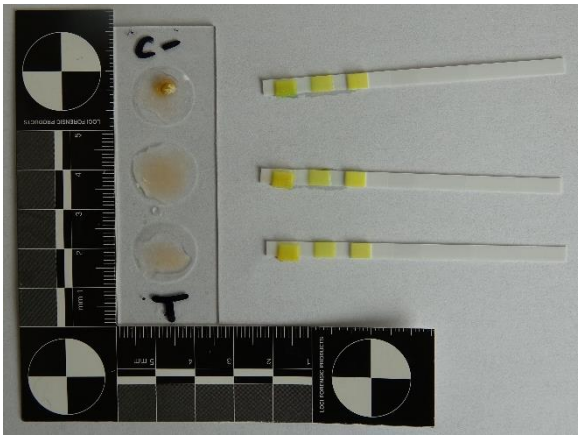
Afbeelding 84: vitamine C als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



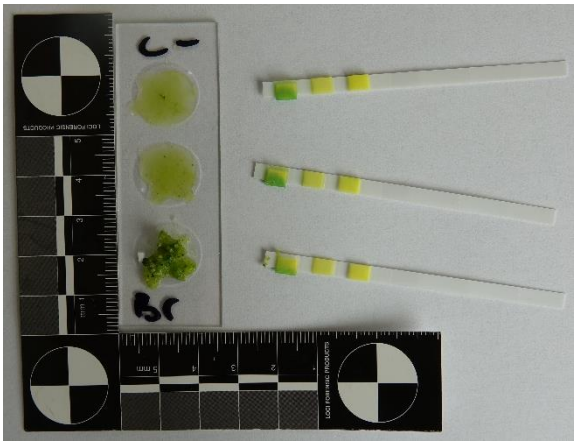
Afbeelding 85: aardappel als vals-positieve getest voor de Combur test, met een negatief resultaat.



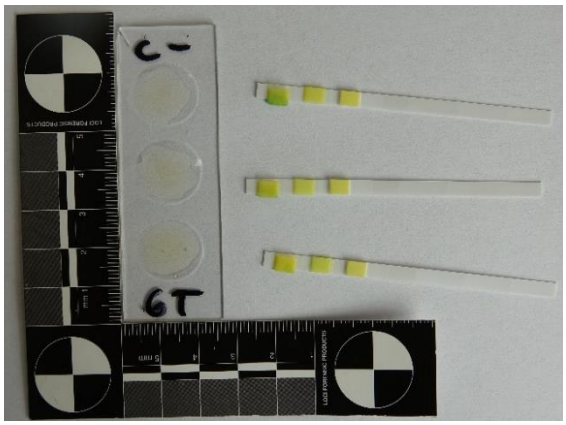
Afbeelding 86: bleek als vals-positieve getest voor de Combur test, met een vals-positief resultaat.



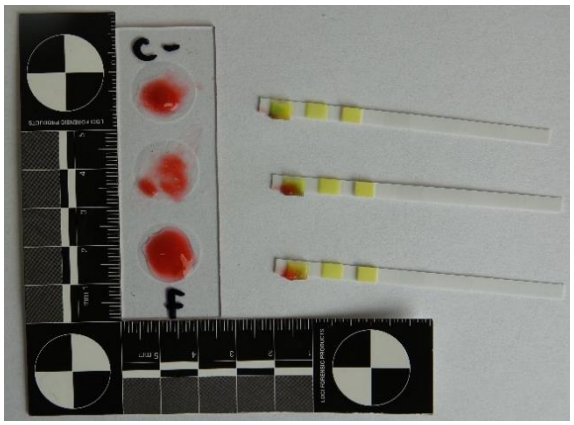
Afbeelding 87: tomaat als vals-negatieve getest voor de Combur test, met een 1/3 positief resultaat.



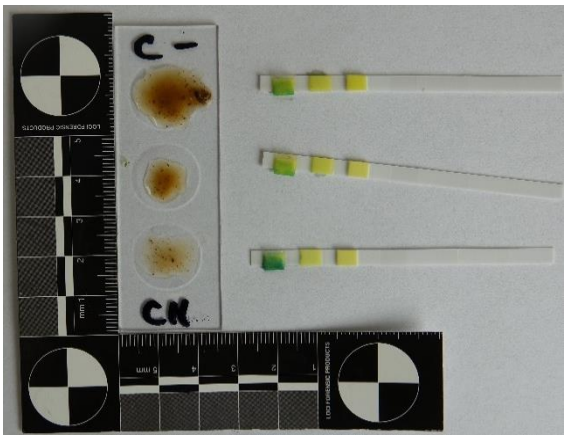
Afbeelding 88: broccoli als vals-negatieve getest voor de Combur test, met een vals-negatief resultaat.



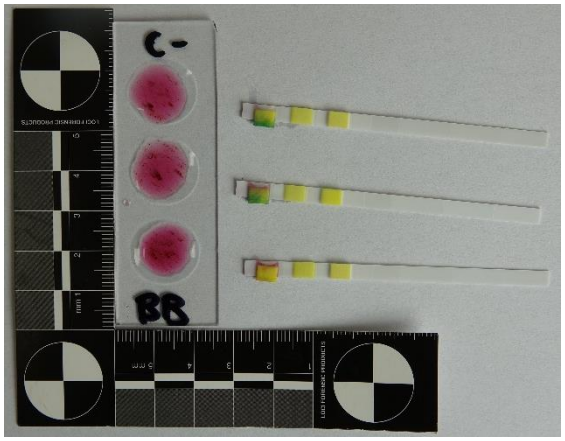
Afbeelding 89: groene thee als vals-negatieve getest voor de Combur test, met een 1/3 positief resultaat.



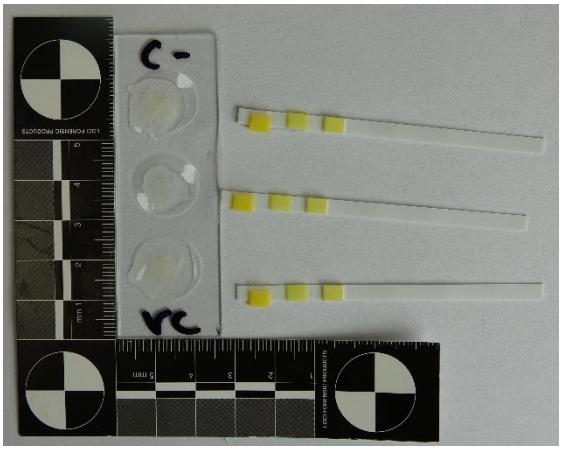
Afbeelding 90: framboos als vals-negatieve getest voor de Combur test, met een 2/3 positief resultaat.



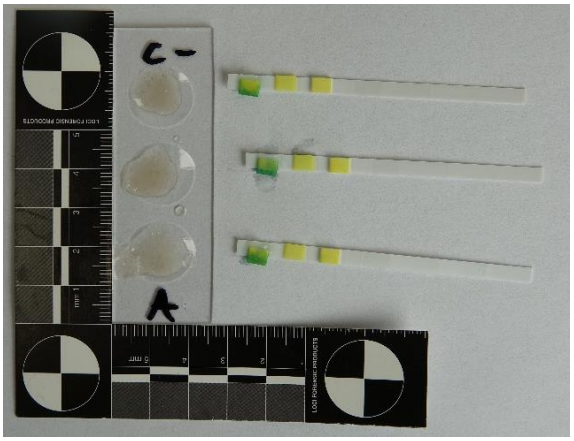
Afbeelding 91: 78% pure chocolade als vals-negatieve getest voor de Combur test, met een positief resultaat.



Afbeelding 92: blauwe bes als vals-negatieve getest voor de Combur test, met 2/3 positief resultaat.

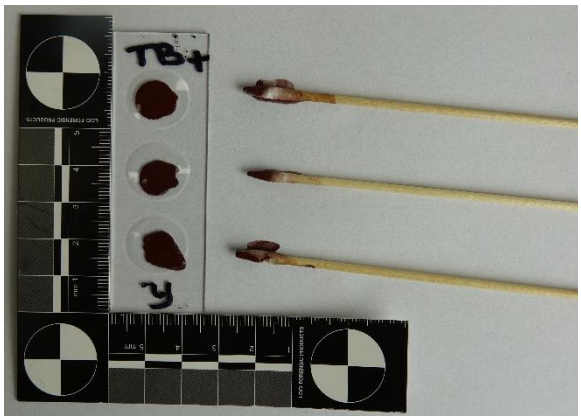


Afbeelding 93: vitamine C als vals-negatieve getest voor de Combur test, met een vals-negatief resultaat.



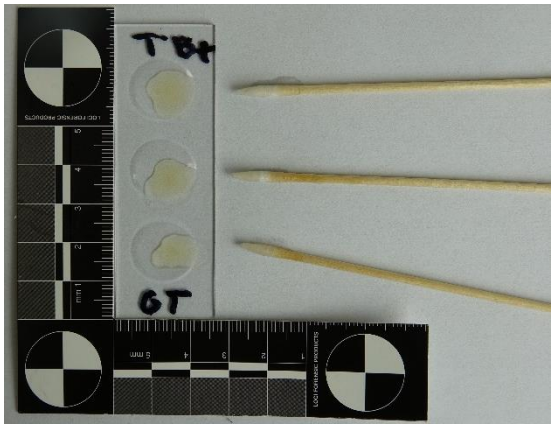
Afbeelding 94: aardappel als vals-negatieve getest voor de Combur test, met een positief resultaat.

Afbeelding 95: tomaat als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.

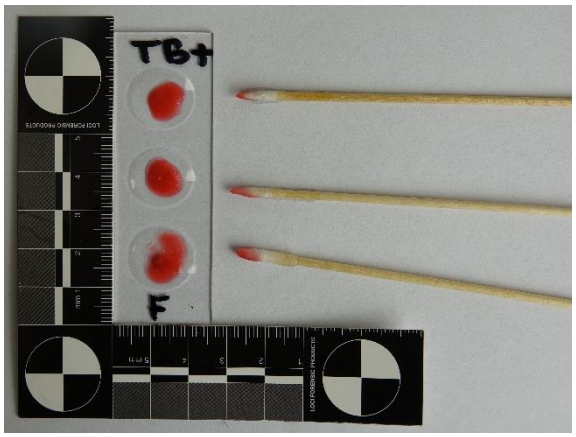


Afbeelding 96: vloeibare ijzeroxide als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.

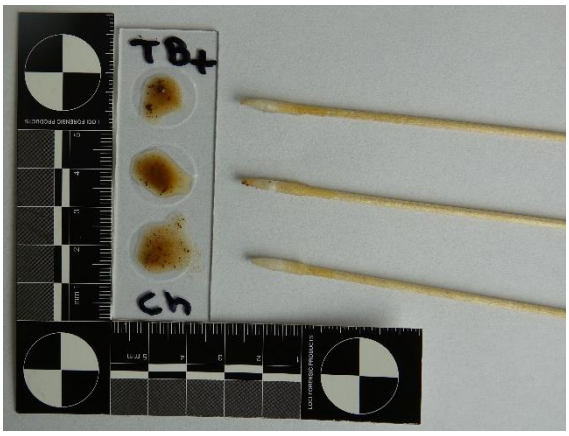
Afbeelding 97: broccoli als vals-positieve getest voor de TB-test, met een vals-positief resultaat na de eerste stap.



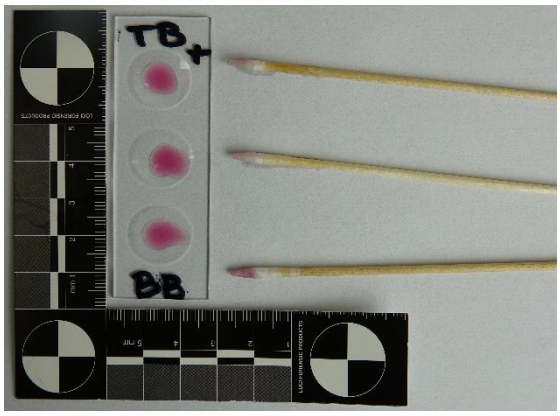
Afbeelding 98: groene thee als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.



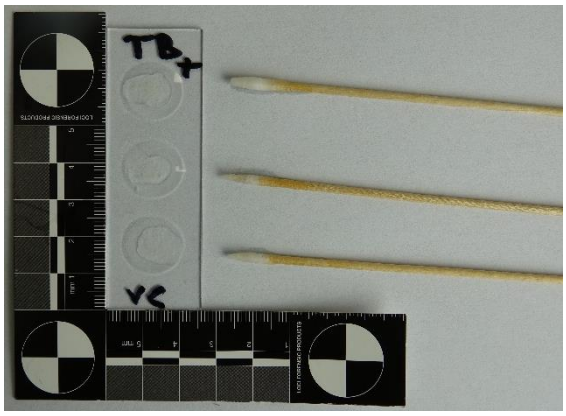
Afbeelding 99: framboos als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.



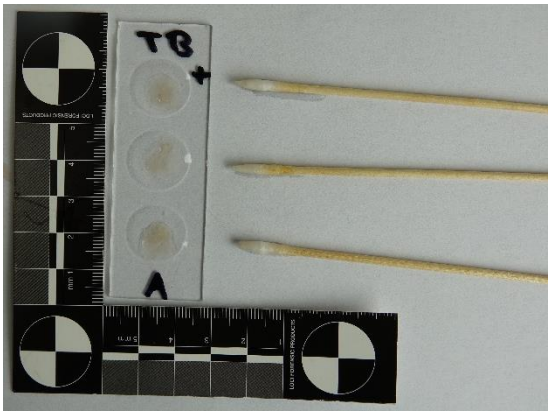
Afbeelding 100: 78% pure chocolade als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.



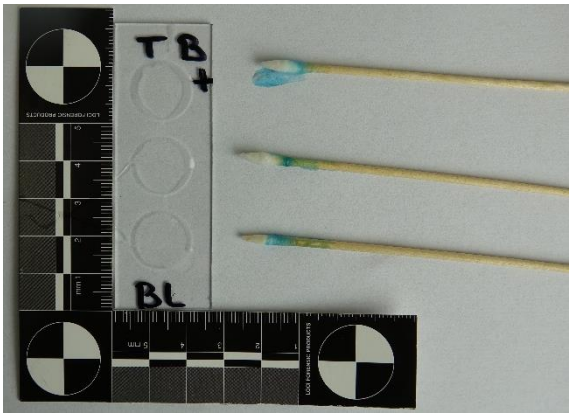
Afbeelding 101: blauwe bes als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.



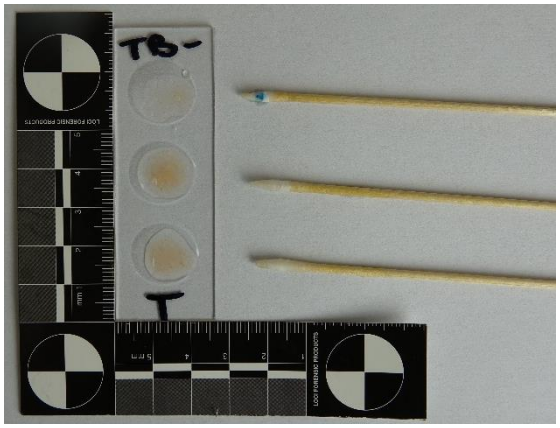
Afbeelding 102: vitamine C als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.



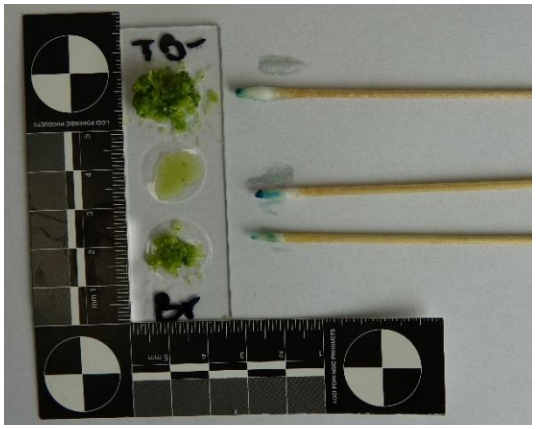
Afbeelding 103: aardappel als vals-positieve getest voor de TB-test, met een negatief resultaat.



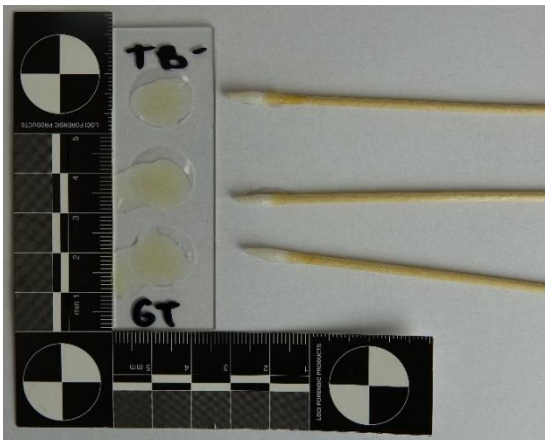
Afbeelding 104: bleek als vals-positieve getest voor de TB-test, met een vals-positief resultaat na de eerste stap.



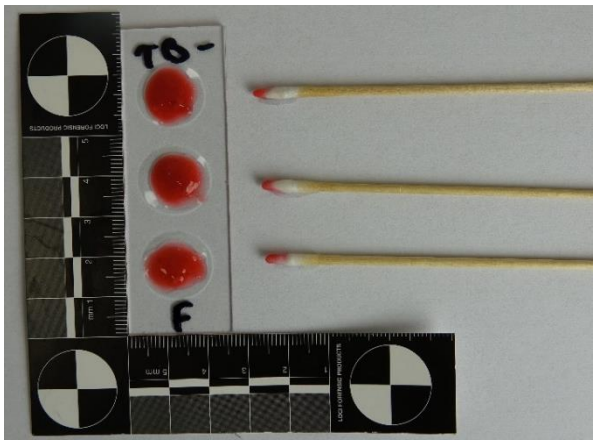
Afbeelding 105: tomaat als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een 1/3 positief resultaat.



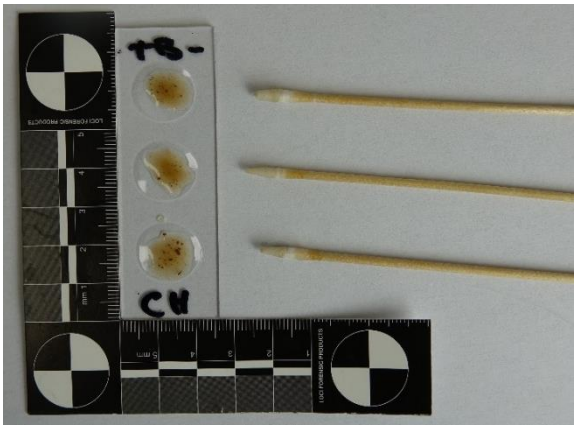
Afbeelding 106: broccoli als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een vals-positief resultaat na de eerste stap.



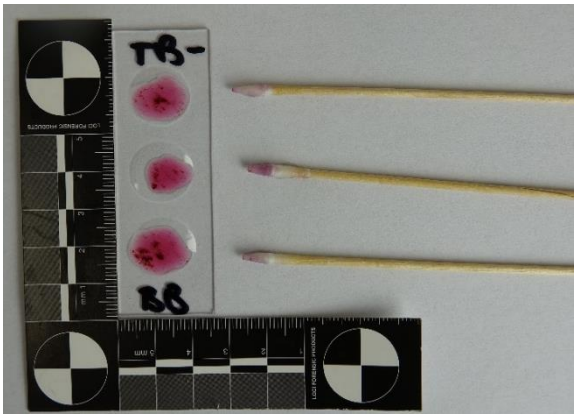
Afbeelding 107: groene thee als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een vals-negatief resultaat.



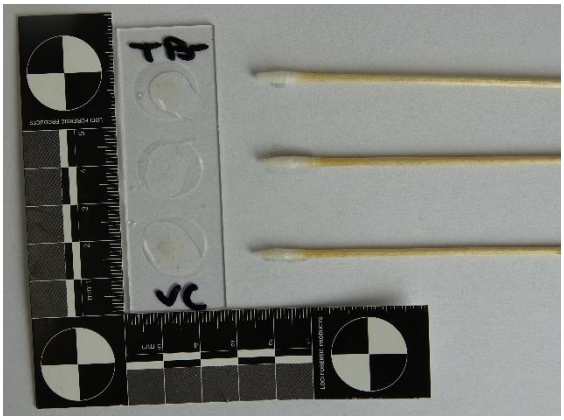
Afbeelding 108: framboos als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een vals-negatief resultaat.



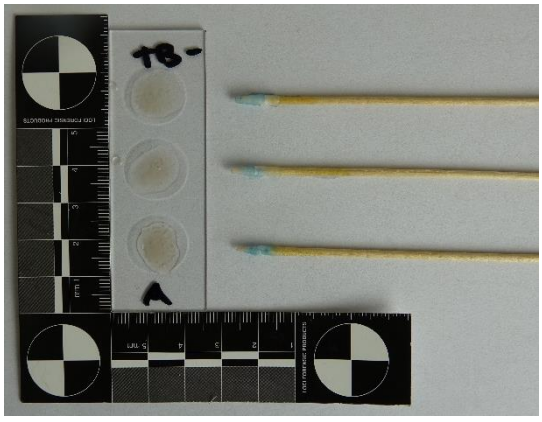
Afbeelding 109: 78% pure chocolade als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een vals-negatief resultaat.



Afbeelding 110: blauwe bes als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een vals-negatief resultaat.

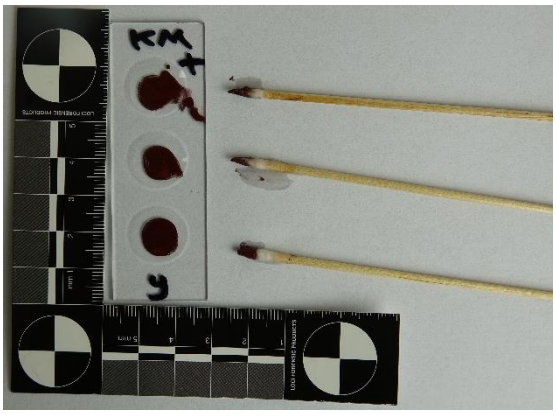


Afbeelding 111: vitamine C als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een vals-negatief negatief resultaat.

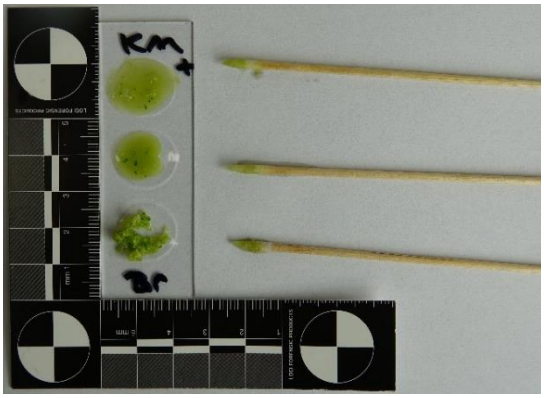


Afbeelding 112: aardappel als vals-negatieve getest voor de TB-test, met een positief resultaat.

Afbeelding 113: tomaat als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief negatief resultaat.

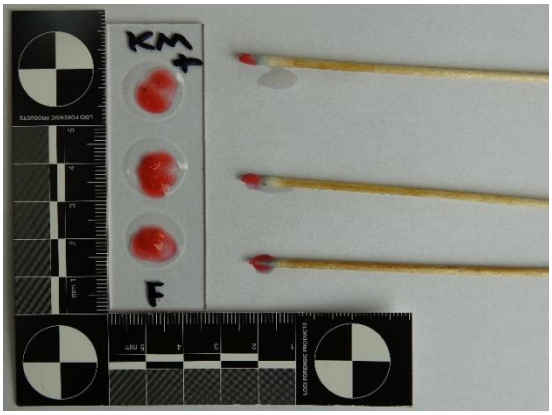


Afbeelding 114: vloeibare ijzeroxide als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief resultaat.

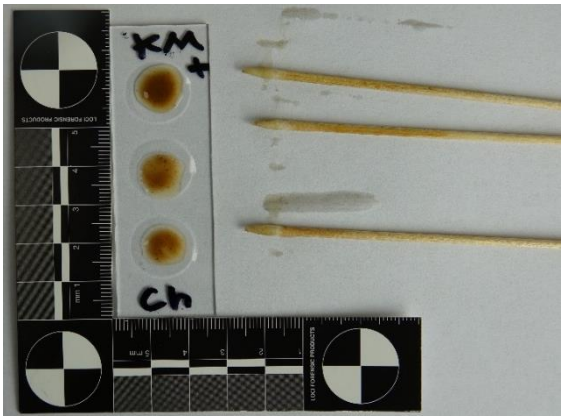


Afbeelding 115: broccoli als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief resultaat.

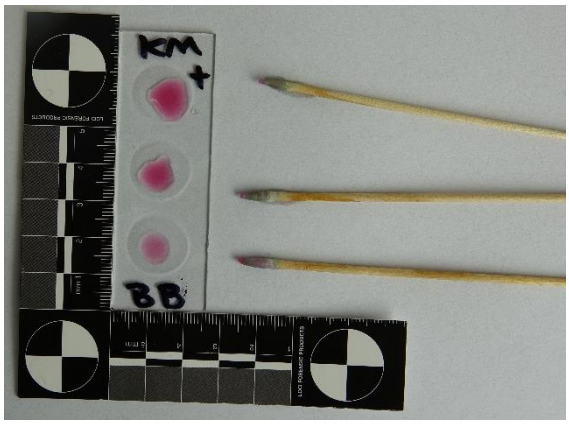
Afbeelding 116: groene thee als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief resultaat.



Afbeelding 117: framboos als vals-positieve getest voor de KM-test, met een blauwgrijze verkleuring als vals-positief resultaat na de eerste stap.

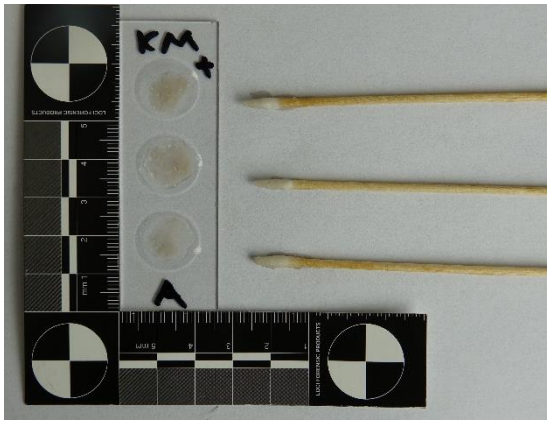


Afbeelding 118: 78% pure chocolade als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief resultaat.

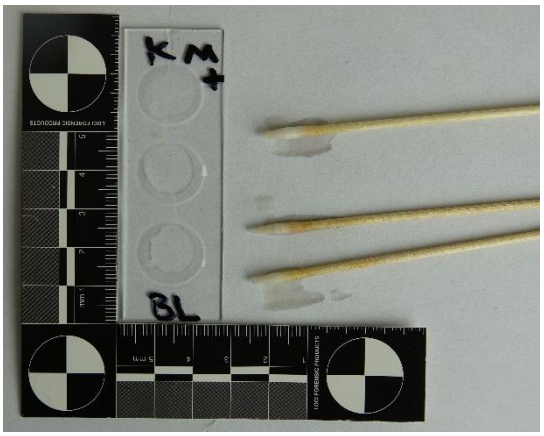


Afbeelding 119: blauwe bes als vals-positieve getest voor de KM-test, met een blauwgrijze verkleuring als vals-positief resultaat na de eerste stap.

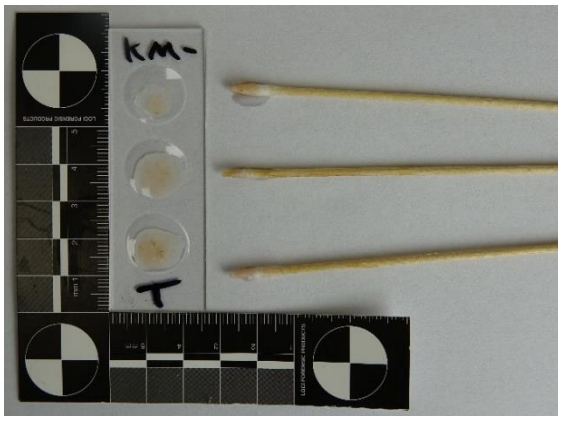
Afbeelding 120: vitamine C als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief resultaat.



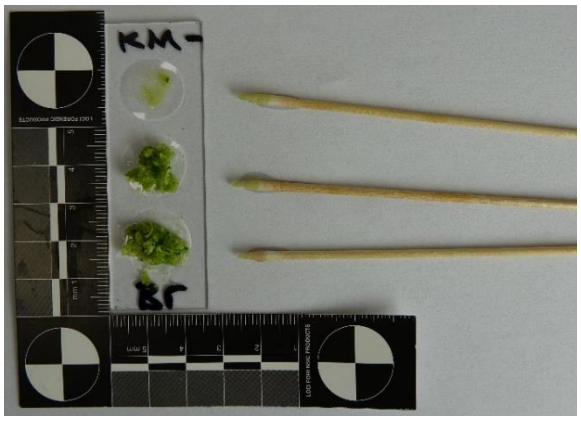
Afbeelding 121: aardappel als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief resultaat.



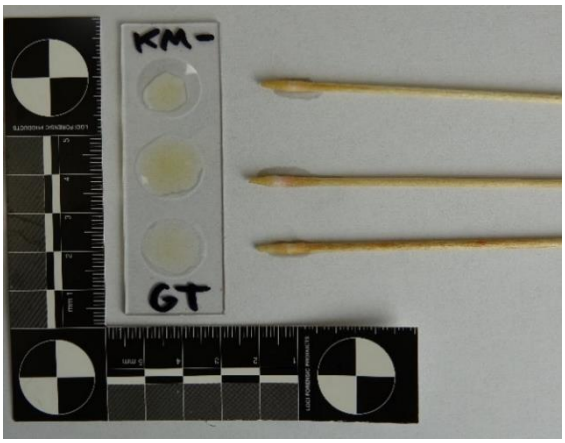
Afbeelding 122: bleek als vals-positieve getest voor de KM-test, met een negatief resultaat.



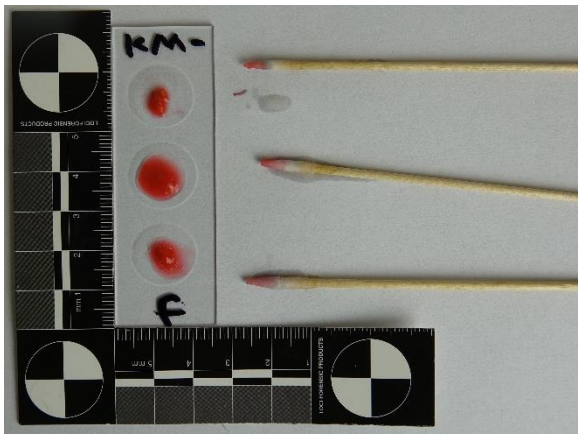
Afbeelding 123: tomaat als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een vals-negatief resultaat.



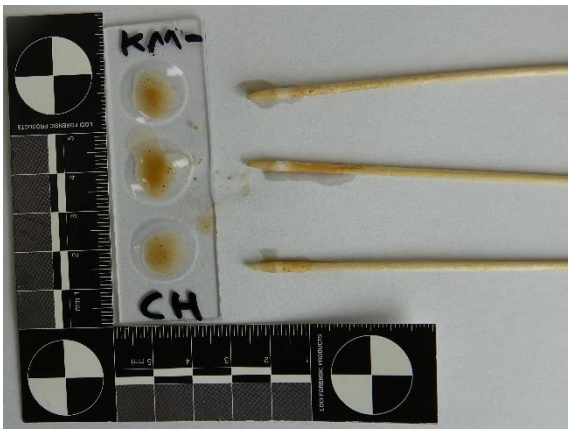
Afbeelding 124: broccoli als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een vals-negatief resultaat.



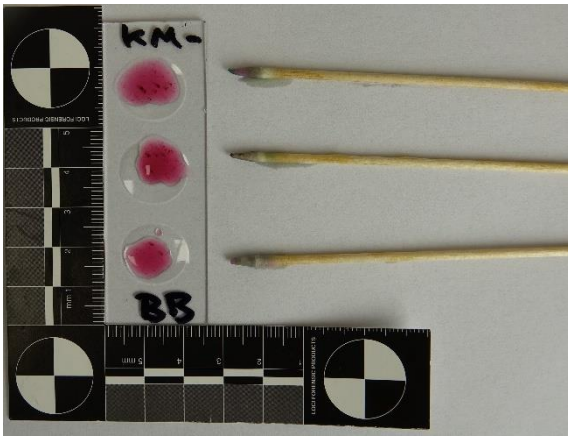
Afbeelding 125: groene thee als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een vals-negatief resultaat.



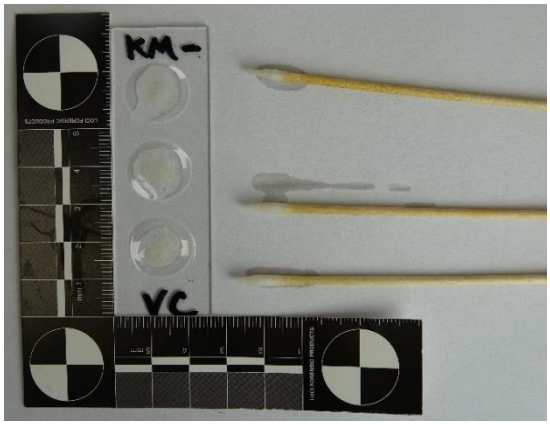
Afbeelding 126: framboos als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een blauwgrijze verkleuring als vals-positief resultaat.



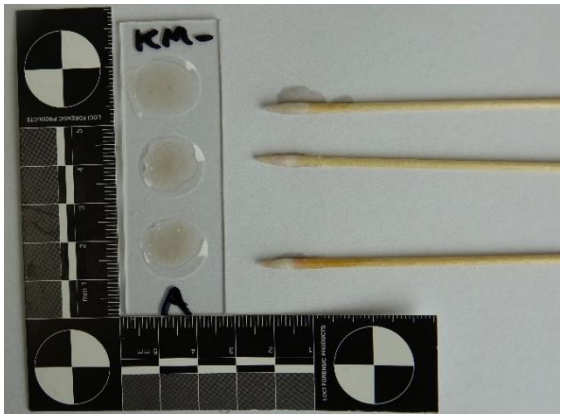
Afbeelding 127: 78% pure chocolade als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een vals-negatief resultaat.



Afbeelding 128: blauwe bes als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een blauwgrijze verkleuring als vals-positief resultaat na de eerste stap.

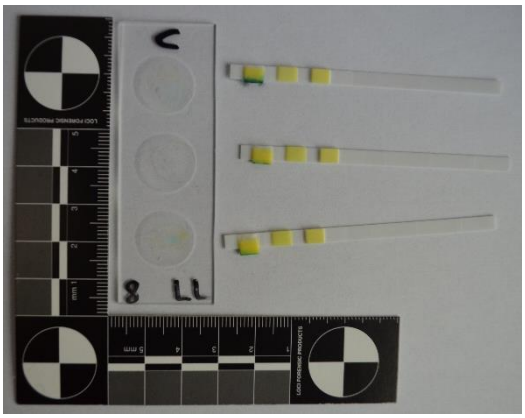


Afbeelding 129: vitamine C als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een vals-negatief resultaat.

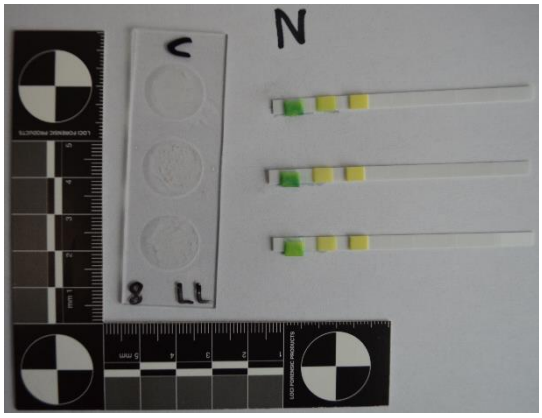


Afbeelding 130: aardappel als vals-negatieve getest voor de KM-test, met een vals-negatief resultaat.

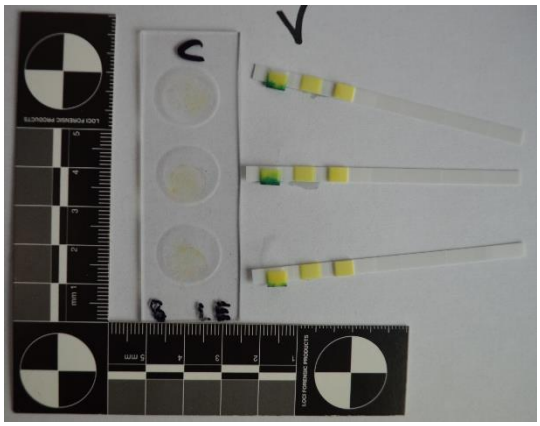
9.3.8 Deelonderzoek 8: de invloed van luminol en lumiscene



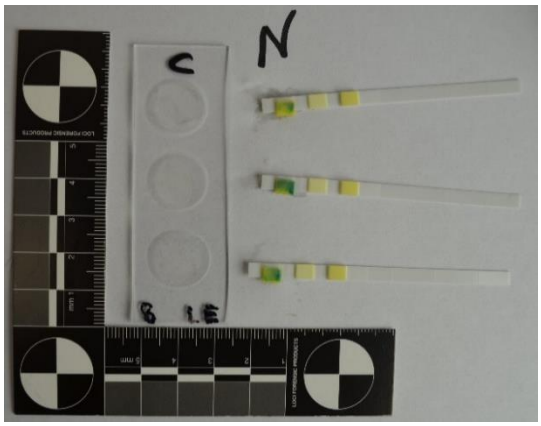
Afbeelding 131: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de Combur test.



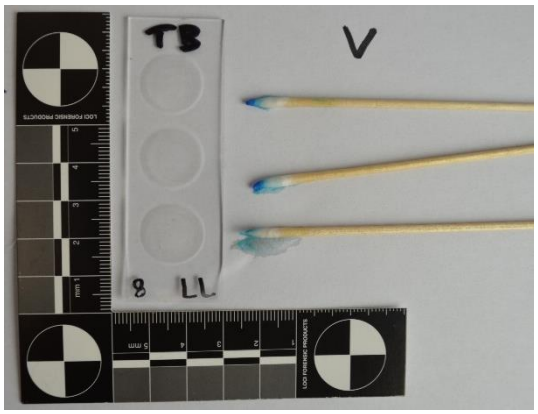
Afbeelding 132: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500 waarna hierop 0,04 ml luminol is gepipetteerd, getest met de Combur test.



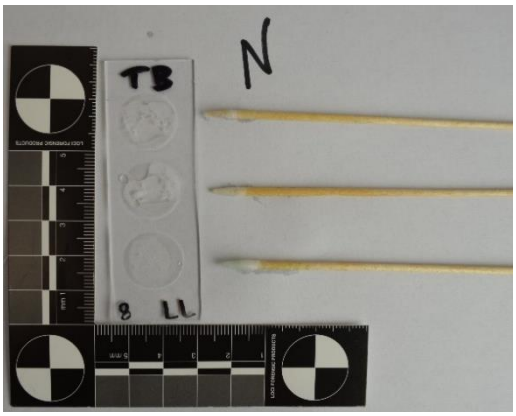
Afbeelding 133: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de Combur test.



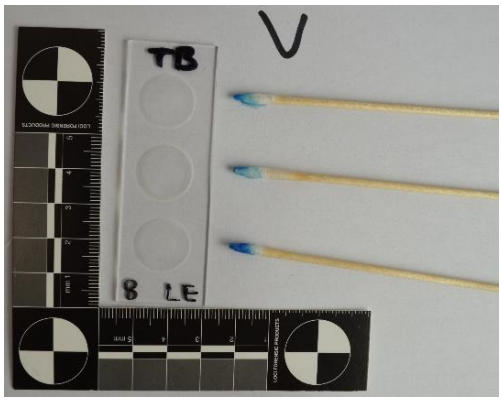
Afbeelding 134: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500 waarna hierop 0,04 ml lumiscene is gepipetteerd, getest met de Combur test.



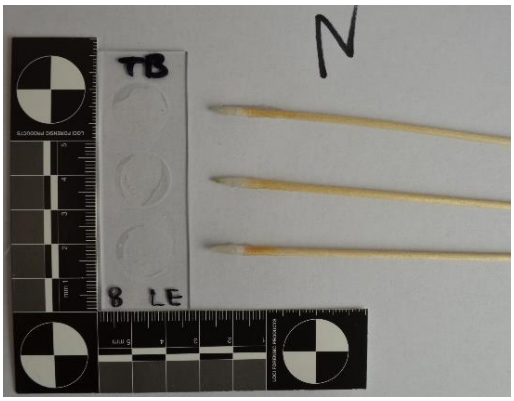
Afbeelding 135: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de TB-test.



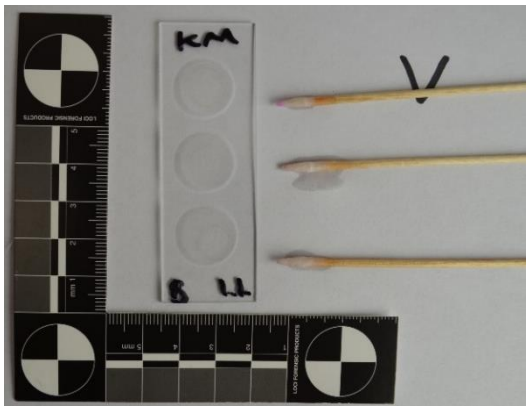
Afbeelding 136: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500 waarna hierop 0,04 ml luminol is gepipetteerd, getest met de TB-test.



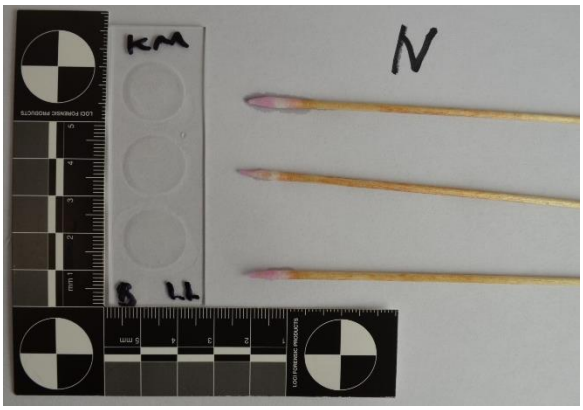
Afbeelding 137: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de TB-test.



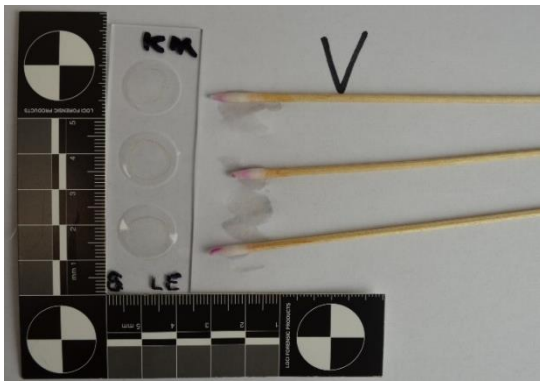
Afbeelding 138: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500 waarna hierop 0,04 ml lumiscene is gepipetteerd, getest met de TB-test.



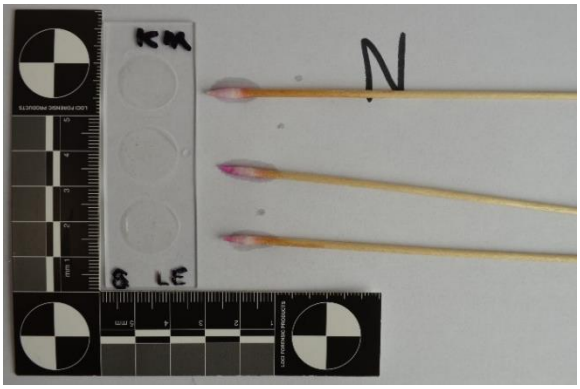
Afbeelding 139: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de KM-test.



Afbeelding 140: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500 waarna hierop 0,04 ml luminol is gepipetteerd, getest met de KM-test.



Afbeelding 141: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500, getest met de KM-test.



Afbeelding 142: bloed in een verdunning met demiwater van 1:1500 waarna hierop 0,04 ml lumiscene is gepipetteerd, getest met de KM-test.