

Over het kwantificeren van DNA - sporen in de Deventer Moordzaak

Demo¹ 3 september 2019

1.	Inleiding.....	2
2.	Samenvatting	2
3.	Conclusies.....	3
4.	Welke beperkingen beïnvloeden de verkregen profielen?	3
4.1.	Beperkingen t.g.v. de gebruikte capillaire elektroforese (CE) techniek:	4
4.1.1.	De injectiemethode, elektrokinetische injectie	4
4.1.2.	Diffusie	4
4.1.3.	Het meetvenster	4
4.1.4.	De oplopende weerstand.....	5
4.2.	Beperkingen t.g.v. het PCR-proces	5
4.2.1.	PCR is een chemische reactie.....	5
4.2.2.	PCR heeft geen vliegende start.....	6
4.3.	Spoortechnische beperkingen.....	6
4.3.1.	Veroudering	6
4.4.	Procedurele invloed.....	7
4.4.1.	Het extractiemiddel	7
4.4.2.	De hoeveelheid PCR-product, die werd geïnjecteerd	7
5.	Bruikbaarheid gevonden meetwaarden	8
6.	Toepassing in de DMZ	9
6.3.	Correcties	12
6.3.1.	Verschillen in bemonstering	12
6.3.2.	Verschillen in injectietijd.....	13
7.	Resultaten en discussie	13
7.1.	De bloedsporen	13
7.1.1.	De afmeting van de monsternamen.	13
7.1.2.	De wijze van de monsternamen.....	14
7.1.3.	De lage bloedvlek-intensiteiten in #10.....	16
7.2.	De greepsporen	21
7.3.	De lichtrode vlekken.	23
7.3.1.	De controle-monsters	25
7.3.2.	De crime-scope	29
7.4.	Speekselsporen?.....	30
7.5.	Spoor #20 en apoptosis	31
7.5.1.	Stand van wetenschap op moment van de verklaring.	32
7.5.2.	Cornificatie leidt tot het onzichtbaar worden van celkernen.....	32
7.5.3.	Het verlies van celkernen bij cornificatie treedt niet bij iedereen op.	33
7.5.4.	Geprogrammeerde celdood.....	33
8.	DNA aan de nagels	34
8.1.	Het autosomale onderzoek bij het NFI	34
8.2.	Het Y-chromosome onderzoek bij het FLDO	36
8.2.1.	Nagelvuil	36
8.2.2.	Celmateriaal.....	38
8.2.3.	Kwantitatief.....	39
8.3.	Bron?	39
8.3.1.	De autosomale profielen	40
8.3.2.	De Y-chromosomale profielen	40
	Literatuur en verwijzingen	43

1. Inleiding

Tijdens het proces van Den Bosch werd nieuw bezwarend bewijs tegen de aanvrager van de herziening gepresenteerd: er waren DNA-sporen aangetroffen. Op zich was het aantreffen van de sporen geen rechtstreeks bewijs, aangezien Louwes volgens eigen verklaringen het latere slachtoffer kort voor de moord in haar huis had ontmoet en gesproken. Daarbij kan DNA-overdracht optreden.

Het NFI bracht naar voren, dat de sporen niet langs deze weg konden zijn ontstaan. Een deel van de naar voren gebrachte argumenten steunden op redeneringen omtrent de (grote) hoeveelheid DNA-materiaal, dat was overgebracht. Deze redeneringen werden nogal uit de losse pols geponeerd en vormen de reden, waarom hier kwantitatieve gegevens uit het DNA-materiaal zijn afgeleid, ondanks het feit dat de gebruikte technologie daar in eerste instantie niet voor is ontworpen. M.a.w., het NFI heeft zelf de deur hiertoe opengezet. Daarbij is het opvallend, dat de redeneringen niet werden gepresenteerd door de eerstverantwoordelijke van het NFI op het terrein van het DNA-onderzoek, Dr. A. D. Kloosterman, die zich in de rapporten van 5 december 2003 en 19 januari 2004 geen enkele maal uitliet over de hoeveelheid DNA in de verschillende DNA-sporen. Alle redeneringen over de hoeveelheden DNA stammen uit het NFI-rapport van 22 januari 2004, dat uitsluitend werd ondertekend door ing. R. Eikelenboom, die zich op het gebied van DNA-onderzoek slechts gesteund wist door HTS-opleidingen als chemisch analist.

2. Samenvatting

Uit profielgegevens ontstaat een beeld van de hoeveelheid DNA in de geanalyseerde monsters. Uit de fotografische vastlegging kan worden afgeleid, hoe groot de verzamelde monsters waren. Uit combinatie van deze waarnemingen kan worden afgeleid, welke DNA-intensiteit in deze monsters optrad.

Hieruit blijkt, dat het uiterst onwaarschijnlijk is, dat het DNA-monster van Louwes in spoor #10 uit het aldaar zichtbare bloedspoor stamde. Het moet wel een speekselrestant zijn. Ga je daar vanuit, dan is de uitkomst van de berekeningen wel conform de verwachtingen. De extra pieken in spoor #10 kunnen heel wel worden toegeschreven aan het bloedspoor, ze passen alle in het profiel van het slachtoffer. Deze mogelijkheid werd tijdens het proces niet eens onder de loep genomen, aangezien de deelnemers onwetend waren van de details.

Uit fotomateriaal blijkt, dat soortgelijke vlekken als #10 pas na het delict op de blouse werden gedeponeerd, als gevolg van ongedocumenteerde handelingen.

Voorts blijkt de theorie van het NFI rond het ontstaan van spoor #20 om meerdere redenen niet op te gaan. Als 'greepspoor' wordt het aan alle kanten gepasseerd door de veel sterkere sporen #7 en #12, waarbij geldt dat deze laatste sporen ook zichtbare sporen op het slachtoffer zelf achterlieten. Ook bevatten deze sporen geen significante hoeveelheden DNA van Louwes. Spoor #20 zou bestaan uit stervende huidcellen, maar daarvoor is geen wetenschappelijke onderbouwing beschikbaar. Het patroon en verloop in intensiteit van de sporen en controlesporen rond het lichtrode spoor #9 stemmen overeen met het achterlaten van DNA door spreken met consumptie, zoals het gevolg zou zijn, indien Louwes daadwerkelijk in de ochtend van 23 september van achter mevrouw Wittenberg had meegekeken op een belangrijk document en daarbij antwoorden op haar voor de hand liggende vragen had gegeven.

Bij pogingen het proces later nog vlot te trekken, of beter gezegd, dit te verhinderen, werd door het OM besloten Y-str analyse op de vingernagels te laten uitvoeren, waarbij zeer partiële matches met Louwes tot stand kwamen. De resultaten werden ten onrechte als incriminerend gepresenteerd. Eerst werd ten onrechte de term nagelvuil geïntroduceerd, later werden de Y-str sporen zelfs als 'autosomaal' betiteld. In werkelijkheid gaat het hier om een handvol DNA-moleculen, het natuurlijke gevolg van onverantwoorde - want ongedocumenteerde - manipulaties met het slachtoffer. Voorts bleek alsnog, dat een aantal sporen in verschillende onderzoeken wezenlijk andere resultaten te zien gaven.

3. Conclusies

In de Deventer Moordzaak werden de DNA-analyses aangeboden in hapklare porties, eerst de sporen #1 t/m #9, daarna de sporen #10 t/m #20, speciaal geselecteerd naar de smaak van de eerste portie.

Pas in 2006 werd er een meer integrale aanpak gekozen, maar helaas onder de beperking, dat er gericht werd gezocht naar bloedvlekken en er niet gekeken werd naar de eerder opgemerkte sporen op het rugpand. Deze laatste sporen zouden een snelweg naar de onschuld van Louwes vormen. Die afslag werd steeds vermeden.

Op basis van wat men meende te zien werd er een indeling gemaakt in soorten sporen, zonder zich te bekommeren om de mate van homogeniteit in de gevormde groepen. Andere sporen werden totaal genegeerd. Veel kon daardoor niet kloppen, nog eens een opsomming:

- Spoor #10 bevat am-kenmerken, die als hoogste pieken voorkomen in het profiel van W, zonder dat deze mogelijke samenhang werd gerapporteerd.
- Spoor #10, berekend naar het oppervlak van het zichtbare bloedspoor, bevat veel te veel DNA hiervoor; het DNA moet uit een geconcentreerd, maar onzichtbaar DNA-spoor stammen.
- Spoor #10 ligt in een zone, waar je speeksel kunt verwachten en sluit aan op sporen in de omgeving, die wel zijn gerapporteerd maar niet zijn onderzocht op DNA.
- Spoor #42 werd bij later NFI-onderzoek (2006) ook als bloedspoor voorzien van het etiket enkelvoudig DNA spoor van Louwes; bij controle door het FLDO bleek het een mengprofiel met DNA van het slachtoffer. Spoor #10 werd nimmer gecontroleerd door het FLDO.
- Spoor #9 staat model voor de lichtrode sporen, maar spoor #18 uit deze groep is disproportioneel veel sterker qua DNA-gehalte, zonder dat duidelijk is gemaakt hoe dat kan.
- Spoor #9 lijkt qua DNA-samenstelling veel meer op de sporen #15 en #17, waar het volgens de redenering van het NFI nu juist niet op had mogen lijken.
- Spoor #9 past in een patroon van afnemende DNA-activiteit, afgaande op figuur 34.
- De omvangrijkste lichtrode sporen werden in 2003 niet bemonsterd en verschenen in het NFI-rapport 2006 onder de noemer bloedvlekken en gaven negatieve resultaten m.b.t. Louwes. De als groep gepresenteerde lichtrode sporen vormen geen homogene groep.
- Spoor #20 wordt gerekend tot de lichtrode sporen; het NFI redeneert, dat het een greepspoor is wegens het hoge DNA-gehalte van W. Tegelijkertijd laat het NFI de sporen #7 en #12 geheel onbesproken, terwijl het DNA-gehalte van W in deze sporen torenhoog is, ook in vergelijking met spoor #20. De sporen #7 en #12 bevinden zich boven een duidelijk greepspoor op het lichaam van W. Zij bevatten geen significante bijdrage van Louwes.
- Er werd gewicht gegeven aan het ontbreken van een crime-scope-sigitaal zonder relevante analyse.
- Uitspraken betreffende de hoeveelheid DNA in spoor #20 zijn mogelijk gebaseerd op een verwarring rond de gebruikte eenheden en komen niet overeen met de gegevens omtrent de gebruikte apparatuur, zoals gepubliceerd door het NFI zelf.
- Uitspraken rond spoor #20 rond de afbraak van DNA in huidcellen gaan uit van een model, dat niet gestaafd wordt door wetenschappelijke gegevens.
- De positie van spoor #20 wisselt van NFI-rapport tot NFI-rapport.
- De documentatie rond de nagelsporen wemelt van de vergissingen. De sporen zelf lijken ook verwisseld. Een grondige analyse van de Y-str sporen werd nooit gegeven.

4. Welke beperkingen beïnvloeden de verkregen profielen?

De basis van elke DNA-analyse wordt gevormd door zogenaamde profielen, een grafische weergave van de aangetroffen DNA-fragmenten. Het verkrijgen van deze profielen is onderhevig aan een

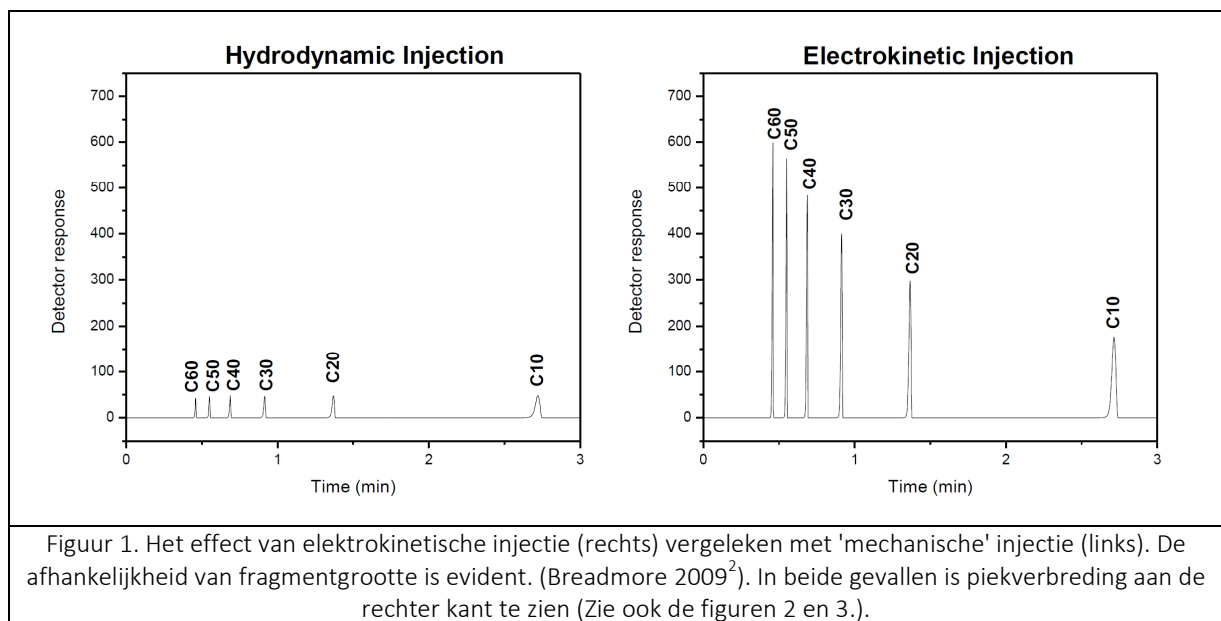
aantal invloeden, veroorzaakt door de gebruikte apparatuur, gevoerde procedures en voorgeschiedenis van de verzamelde sporen:

4.1. Beperkingen t.g.v. de gebruikte capillaire electroforese (CE) techniek:

4.1.1. De injectiemethode, elektrokinetische injectie

Deze methode komt er op neer, dat er voor de werkelijke start van het electroforese-proces al een electroforese-proces van korte duur in werking wordt gezet, waarmee de DNA-fragmenten uit de monster-ampul worden omhoog gezogen.

Anders dan in het uiteindelijke proces, wordt hierbij niet gewacht, totdat alle DNA-fragmenten in de capillair zijn aangekomen, er is sprake van een beperkt tijdvenster, de injectietijd. Hierdoor is er sprake van een voorselectie, die het uiteindelijke meetresultaat ernstig uit balans brengt; korte fragmenten zullen frequenter worden 'opgevist'.



4.1.2. Diffusie

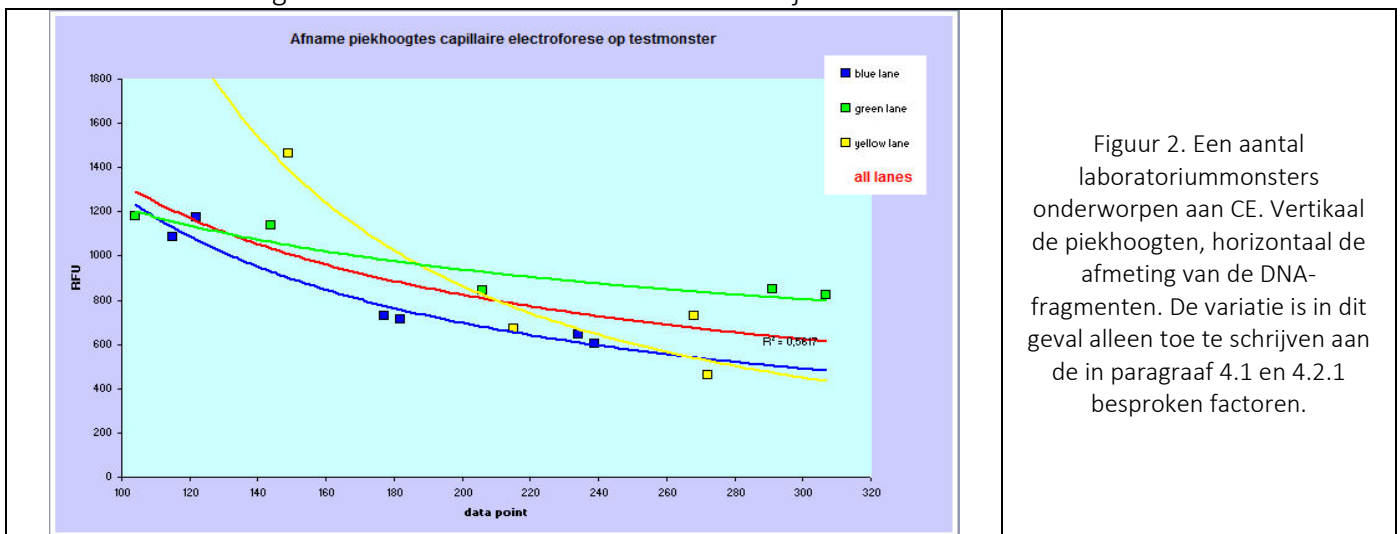
De electroforese vindt bij verhoogde temperatuur plaats, zo'n 60 °C. Hierdoor zullen de deeltjes in de capillair niet alleen bewegen o.i.v. het toegepaste elektrische veld, maar ook een versterkte Brownse beweging vertonen, die random is. Het gevolg is een verandering van de vorm van de gemeten pieken. Indien een fragment omvangrijker is, zal het langer in de capillair verkeren, waardoor de piekvorm sterker verandert van hoog en steil naar laag en vervlakt.

4.1.3. Het meetvenster

Om de fragment te detecteren worden deze tijdens de passage van de meetcel van buitenaf worden bestraald (excitatie), waardoor de fragment fluorescentie gaan vertonen (emissie). De geëmitteerde straling wordt opgevangen door CCD's en omgezet in een elektrisch signaal. De grotere fragmenten bewegen zich langzamer, dus zullen de meetzone langzamer doorlopen, en daarom in een lagere dichtheid. Daardoor zal het signaal minder intens zijn, maar wel langer uitgerekt. Mogelijkerwijs is er een contra-effect, indien dezelfde molecuulgroep meerdere malen in aangeslagen toestand wordt gebracht.

4.1.4. De oplopende weerstand

Bilenko et al. 2003³ rapporteren, dat de weerstand, in het bijzonder aan de detectorzijde, gedurende de CE kan oplopen, waardoor de detectie van de omvangrijkste fragmenten sterk kan afnemen of kan uitblijven.

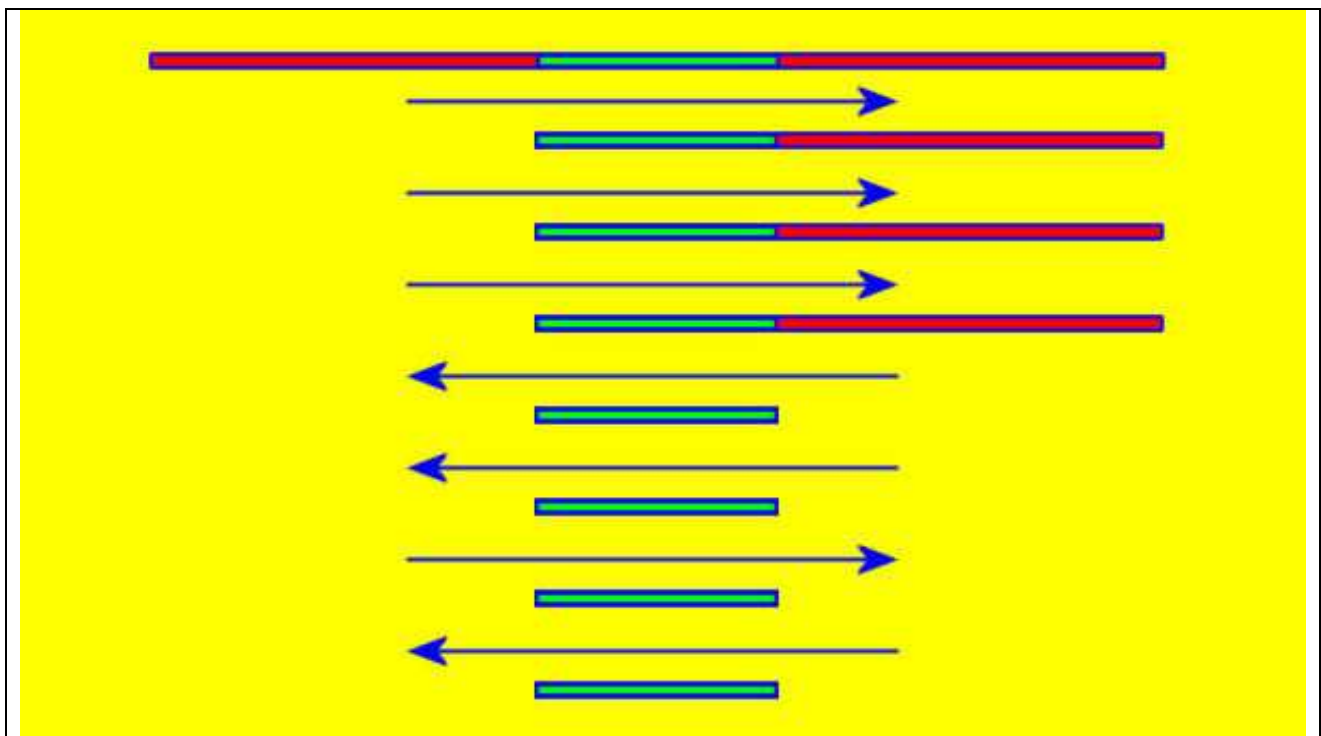


Figuur 2. Een aantal laboratoriummonsters onderworpen aan CE. Vertikaal de piekhoogten, horizontaal de afmeting van de DNA-fragmenten. De variatie is in dit geval alleen toe te schrijven aan de in paragraaf 4.1 en 4.2.1 besproken factoren.

4.2. Beperkingen t.g.v. het PCR-proces

4.2.1. PCR is een chemische reactie

Het kopieerproces is in wezen een chemisch proces. Net zoals bij elke ander chemisch proces is er sprake van concurrentie met andere processen. Processen met de laagste entropieverandering = grootste waarschijnlijkheid gaan voor, zij het niet in absolute zin. Naarmate een proces 'ingewikkelder' is, ondervindt het meer concurrentie. Korte DNA-fragmenten laten zich dus met een hogere waarschijnlijkheid van succes kopiëren. E.e.a. laat zich illustreren met het 'stuttereffect'. Door een concurrerend proces ontstaat een kopie, die vier base-paren korter is. In de praktijk blijkt het percentage stutterproduct bij omvangrijke kopieopdrachten groter.⁸



Figuur 3. Zolang de richting van de replicatie hetzelfde blijft, ontstaan kopieën, die niet geschikt zijn voor de elektroforese (veel te omvangrijk). Pas als de replicatierichting (eenmaal) andersom heeft plaatsgevonden (50% kans) ontstaan korte fragmenten, zoals bedoeld voor de forensische DNA-analyse.

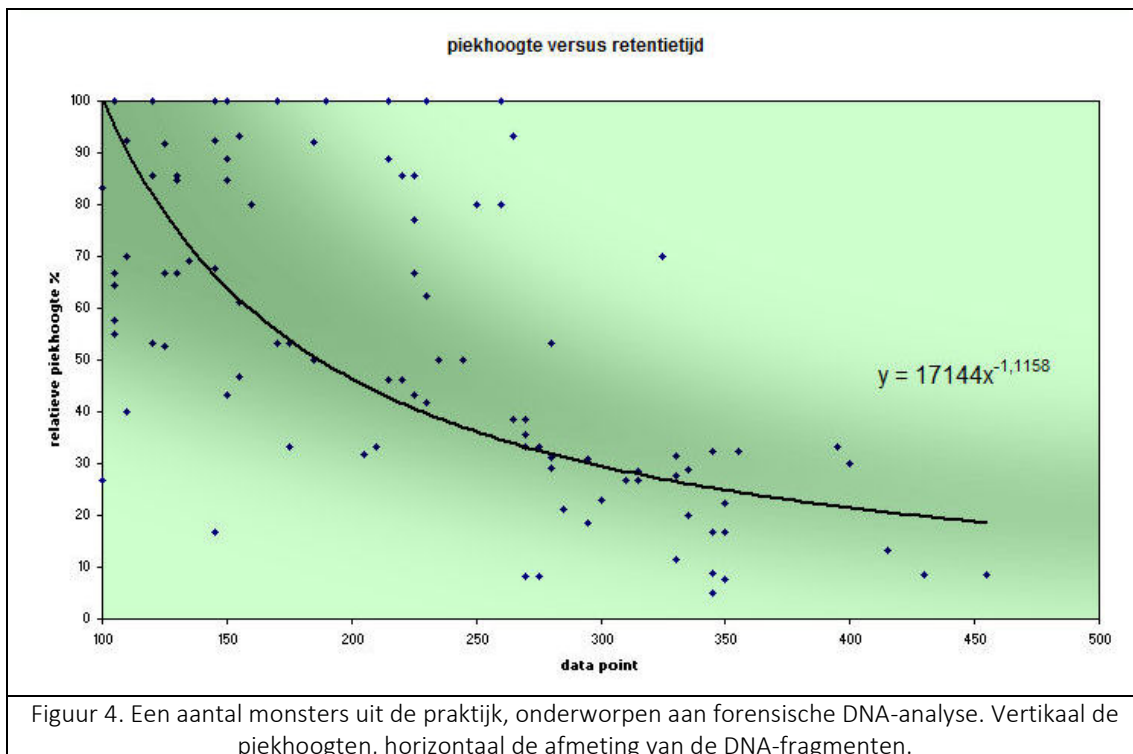
4.2.2. PCR heeft geen vliegende start

Om een volledige kopie te verkrijgen van een DNA-fragment op een locatie van het oorspronkelijke DNA-molecuul, dient het PCR-proces tenminste twee replicatieprocessen op die locatie met succes af te sluiten. De eerste moet plaats vinden op de oorspronkelijke locatie, waarbij de kopieerrichting niet belangrijk is. De tweede replicatie moet plaatsvinden op de ontstane kopie, en wel in de *tegengestelde* kopieerrichting. Dan pas kan een voor capillaire elektroforese (CE) bruikbare kopie van beperkte lengte ontstaan. Indien het oorspronkelijke spoor heel weinig DNA bevat gaat het toeval om een tweede geschikte replicatie te verkrijgen een overheersende rol spelen. Het komt er feitelijk op neer, dat het aantal beschikbare cycli wordt ingeperkt, waardoor de hoeveelheid bruikbare fragmenten geringer is en meer afhankelijk van het toeval.

4.3. Spoortechnische beperkingen

4.3.1. Veroudering

Voorafgaand aan het PCR-proces en de monsterafname heeft het DNA, dat wordt onderzocht soms gedurende langere tijd bloot gestaan aan omgevingsinvloeden, waarbij kosmische straling en (UV)-belichting belangrijk zijn. Omdat deze een ongerichte invloed hebben, is de kans op inbreuk op een bepaald DNA-fragment groter, naarmate dat fragment zelf groter is. Indien het fragment zelf wordt aangetast, zal het niet op de voorziene wijze kunnen worden opgenomen tijdens het kopieerproces. Hierdoor neemt het aantal fragmenten in het DNA-monster af. De verschillende invloed op de linker- en rechterzijde van het diagram is overtuigend aangetoond in Schneider et al. 2004⁴.



Slotsom: bij het beoordelen van de hoeveelheid DNA in een DNA-spoor moet rekening worden gehouden met uitval van pieken aan de rechter zijde van de profielen. De weging van de hoeveelheid gevonden DNA dient plaats te vinden aan de pieken ter linker zijde in de beschikbare profielen, deze hebben een geringere lengte.

4.4. Procedurele invloed

De uitvoerders van het detectieproces kunnen een aantal ingrepen in het proces aanbrengen, zoals de keuze van de extractiemethode, de hoeveelheden gebruikt extract, de hoeveelheid gebruikt PCR-product, de injectietijd en het gebruikte spanningsverschil tijdens de CE.

4.4.1. Het extractiemiddel

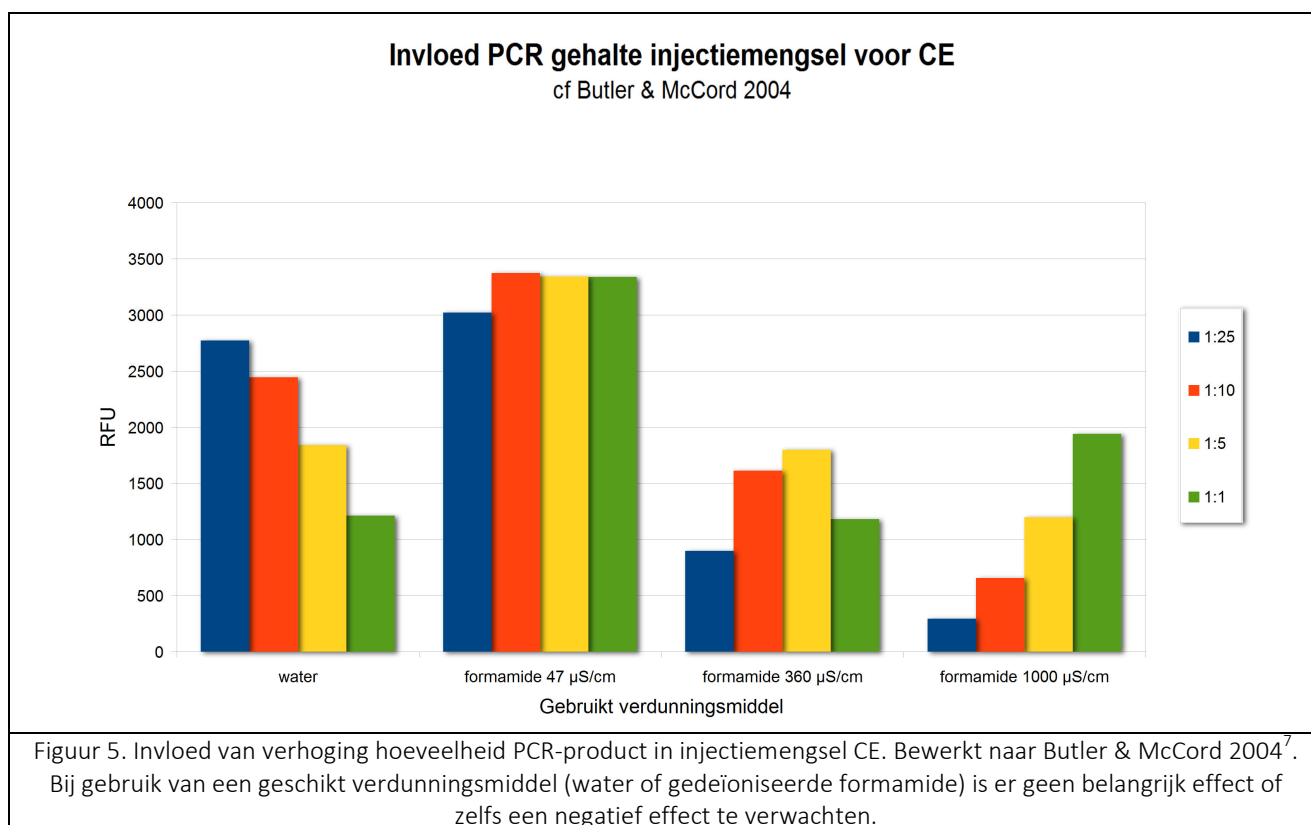
De eerste 10 sporen werden geëxtraheerd d.m.v. Chelex, de volgende 10 m.b.v. QIAamp. Dat kan verschillen hebben opgeleverd, maar uit de meetreeks komt naar voren, dat het verschil redelijk marginaal kan zijn geweest, zie de vergelijking tussen de sporen #7 en #12, later in de analyse. Deze sporen behoren tot beide kampen. Andere vergelijkingen betreffen juist sporen binnen dezelfde groep (de bloedsporen, de roze rode sporen en de controlesporen met name).

De rol van het extractiemiddel komt ook op een andere wijze tot uiting: in 2006 leverde het NFI een modelberekening af voor de hoeveelheid DNA in spoor #20, waarbij het NFI zich baseerde op een extravolume van 400 µL, karakteristiek voor een extractie met Chelex. Het spoor werd echter met QIAamp geëxtraheerd. Het eind volume van een dergelijke extractie bedraagt 50µL, afgaande op de manual van 2001⁵. De door het NFI gepresenteerde uitkomst was dus tot acht maal te hoog.

4.4.2. De hoeveelheid PCR-product, die werd geïnjecteerd

Deze variabele vereist diepgaande aandacht, omdat op het eerste gezicht hiermee een grote mate van variabiliteit lijkt te worden geïntroduceerd.

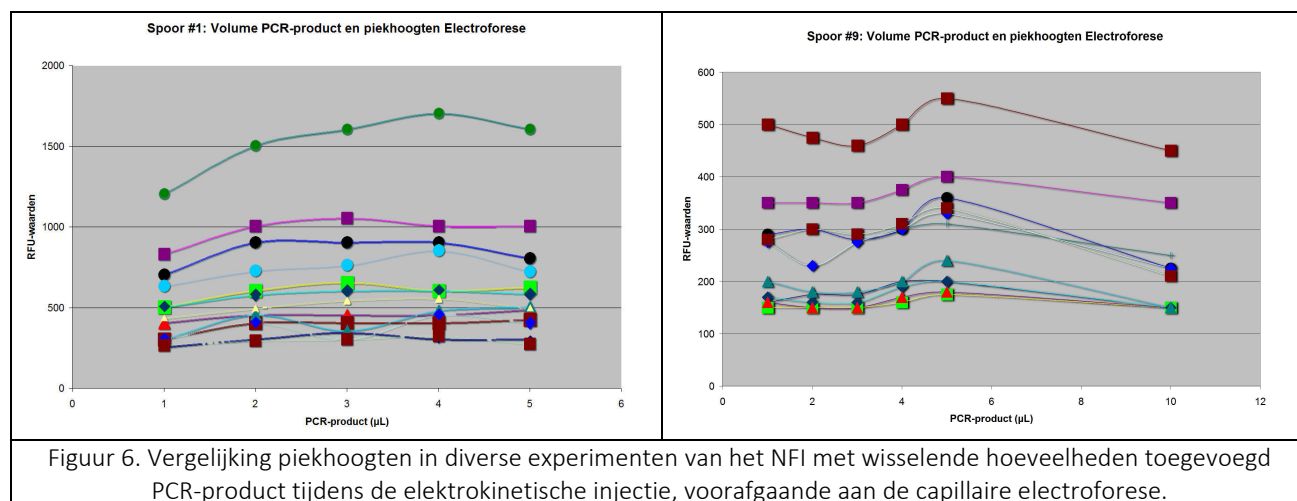
Vooropgesteld kan worden, dat in de literatuur, in meerdere instanties aangehaald in publicaties van Butler⁶, aanwijzingen te vinden zijn, dat deze variabele nauwelijks invloed heeft op de uitkomsten van de CE.



In het NFI-onderzoek in de Deventer Moordzaak (voortaan: DMZ) werd desondanks in twee gevallen (spoor #1 en spoor #9) uitvoerig geëxperimenteerd met het verhogen van het PCR-aandeel in de injectievloeistof, met soortgelijke resultaten als bij Butler & McCord 2004. De vraag blijft hierbij, of vanwege de extra toevoeging van PCR-product

ook extra bufferoplossing werd toegevoegd om de gewenste pH te handhaven. Deze informatie werd niet meegeleverd.

Ook bij nadere (elektrochemische) beschouwing van het proces van elektrokinetische injectie blijkt, dat slechts drie variabelen - het aangelegde spanningsverschil, de totale weerstand tussen kathode en anode tijdens de injectie en de injectietijd - bepalen hoeveel ionen in de capillair worden opgenomen. Van deze variabelen is alleen de injectietijd merkbaar beïnvloedbaar. In de komende analyses, zal deze invloed moeten worden 'genormaliseerd'.

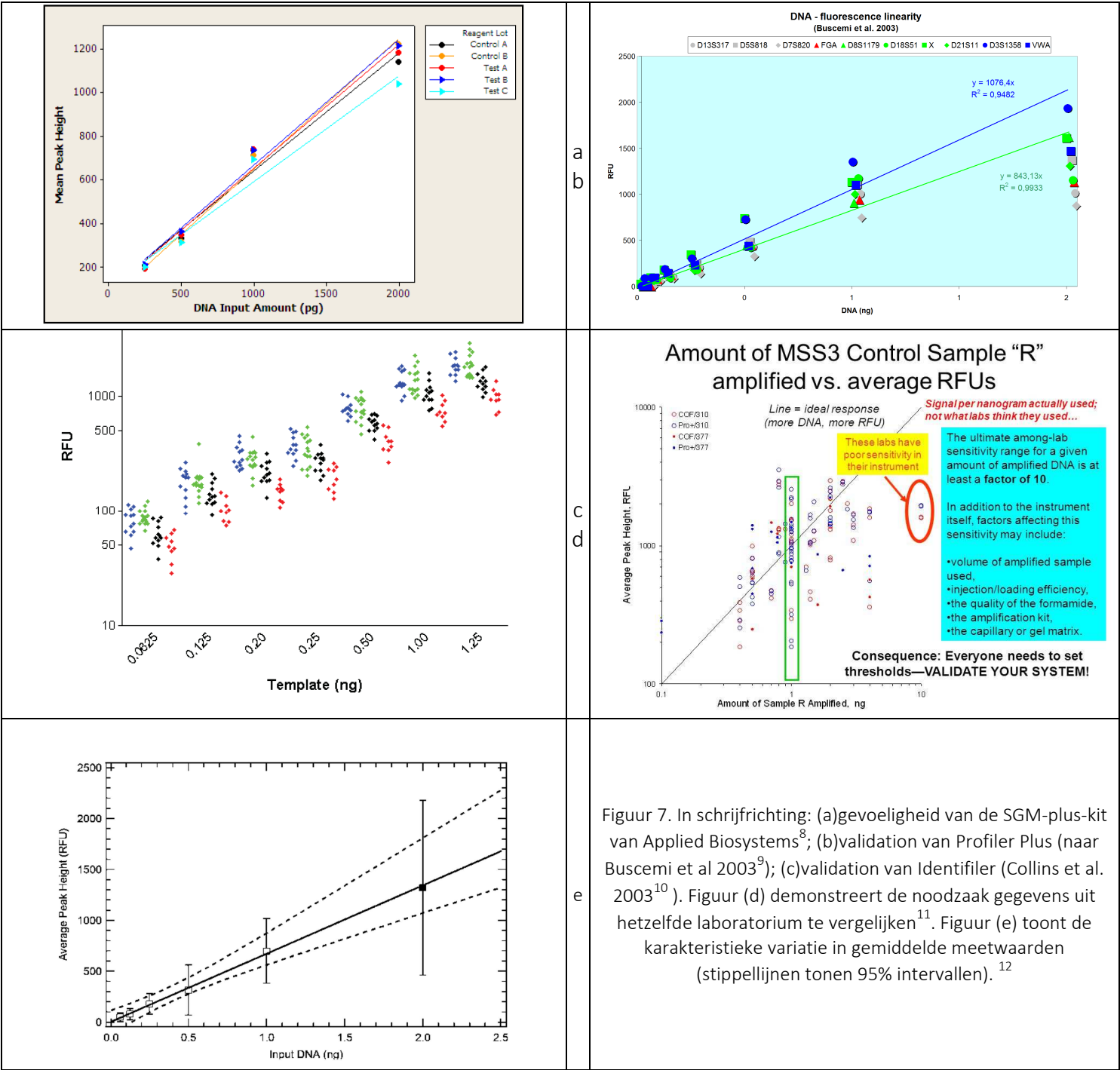


Slotsom: bij het beoordelen van de hoeveelheid DNA in een DNA-spoor moet rekening worden gehouden met uitval van pieken aan de rechter zijde van de profielen. De analyse van de hoeveelheid gevonden DNA dient plaats te vinden met pieken aan de 'linker' zijde in de beschikbare profielen. Voor verschillen in injectietijd dient te worden gecorrigeerd.

5. Bruikbaarheid gevonden meetwaarden

Aan de linker zijde van de profielen staan de meest bruikbare pieken om gebruikt te kunnen worden voor een evaluatie van de hoeveelheid DNA in een DNA-spoor. Maar hoe betrouwbaar is het resultaat van zo'n evaluatie? In de literatuur is slechts een beperkt aantal voorbeelden terug te vinden omtrent de samenhang tussen piekhoogten op geselecteerde loci en de hoeveelheid geanalyseerd DNA. Deze hebben deels betrekking op andere DNA-kits, maar wel van dezelfde fabrikant (Applied Biosystems). Ook heeft Applied Biosystems (ABI) in de user guide van de bij het NFI gebruikte kit (SGM-plus) een diagram van de gemiddelde piekhoogtes tegenover de hoeveelheid geanalyseerd DNA opgenomen (Figuur 7a.).

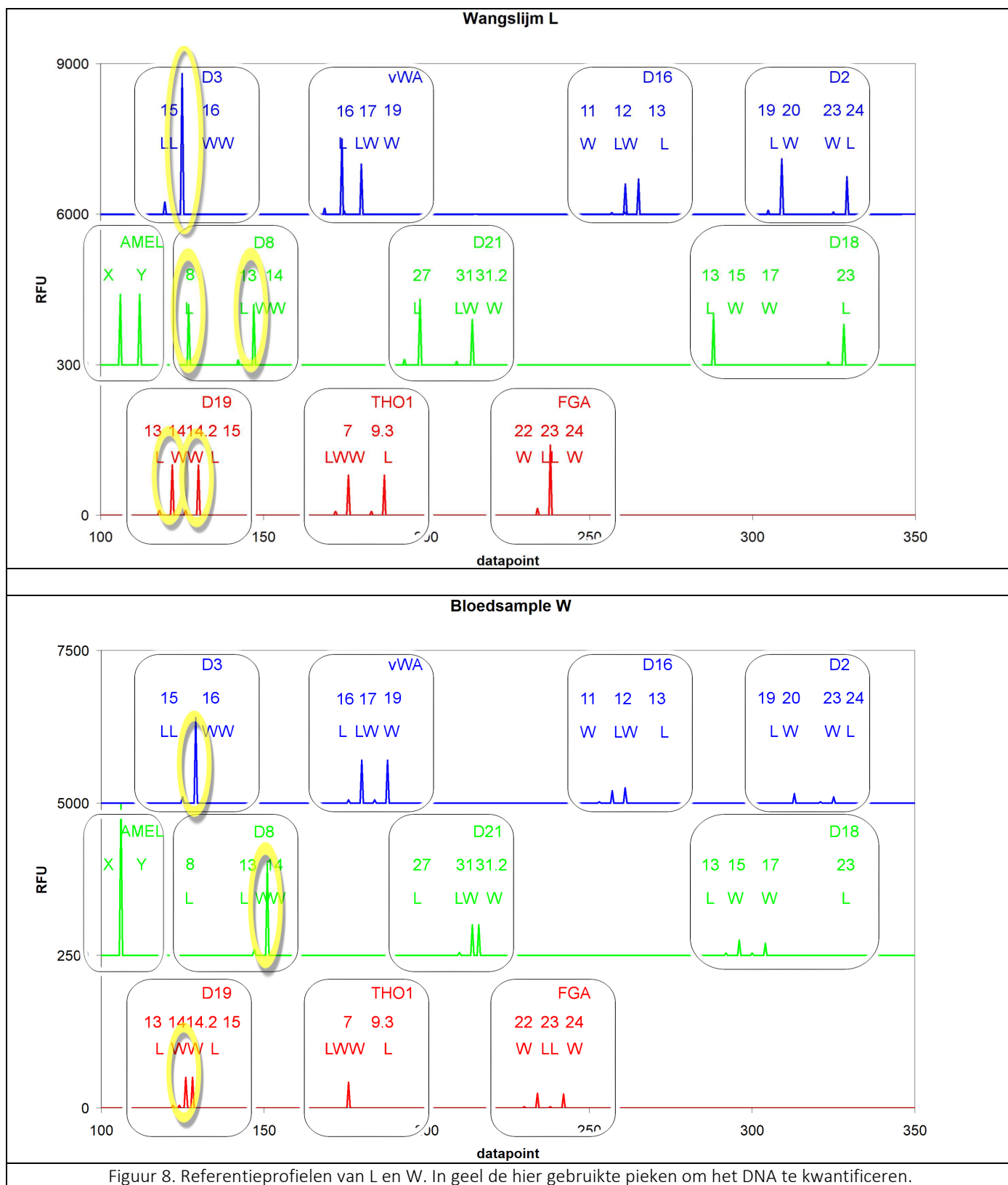
De gevonden resultaten roepen een beeld op, dat lijkt in te stemmen met de stelling, dat piekhoogten een goede indicatie vormen voor de hoeveelheid geanalyseerd DNA. Tot 1 à 2 ng DNA, blijken de gevonden samenhangen ook lineair. Vanaf 1 ng vlakken de piekhoogten af. Dat betekent, dat hoogtes van pieken boven 1000 RFU naar verhouding hogere hoeveelheden DNA indiceren dan hoogtes eronder. Uit de diagrammen blijkt voorts duidelijk, dat het wel nodig is alleen piekhoogten van dezelfde loci met elkaar te vergelijken, waarvoor is gezorgd.



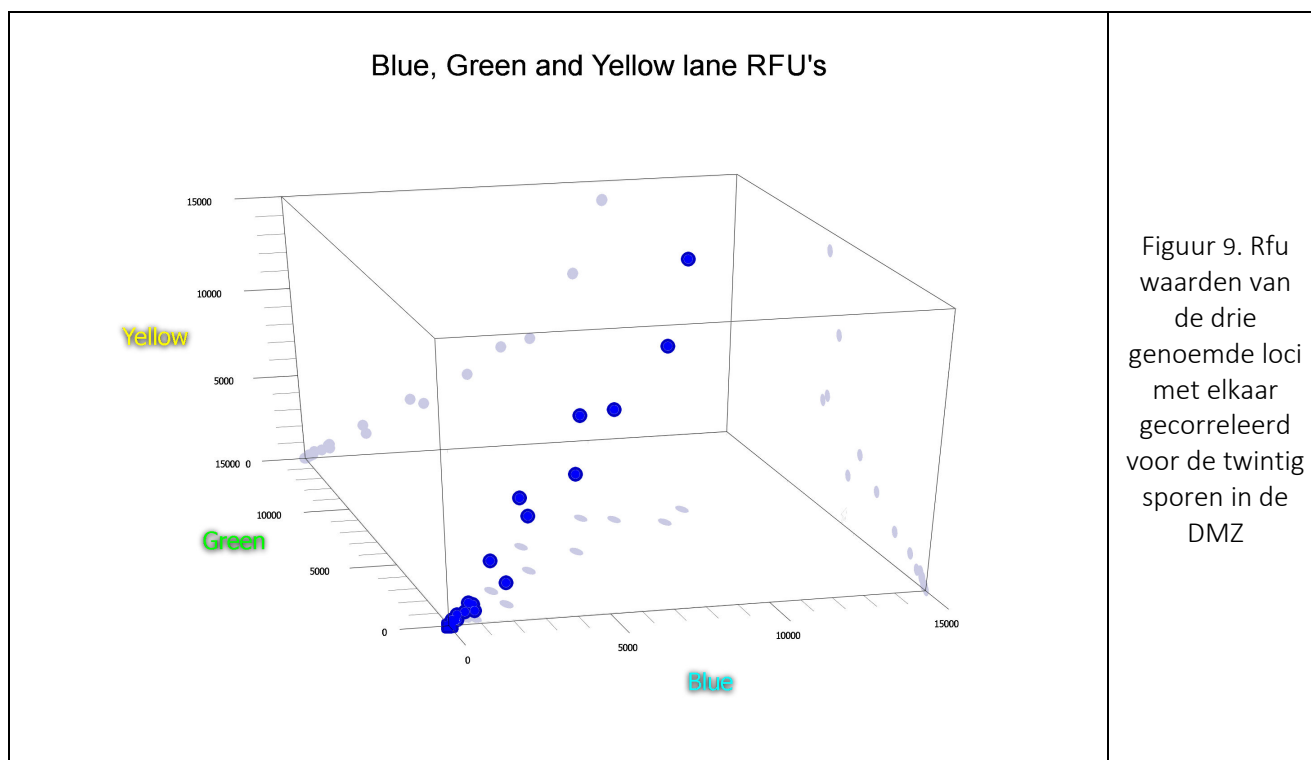
6. Toepassing in de DMZ

6.1. Electroforese

Voor de nadere analyses zijn de meest links in de elektroferogrammen gelegen loci D3S1358 (blue lane), D8S1179 (green lane) en D19S433 (yellow lane) het meest geschikt. D3 vertoont voor Louwes (verder L) een homozygote piek op 15 bps en voor het slachtoffer (verder W) een homozygote piek op 16 bps. D8 is homozygoot voor W op 14 en heeft heterozygote pieken op 8 en 13 voor L (die in de analyses zijn opgeteld). Tenslotte is D19 heterozygoot voor beiden: 13 en 15 voor L en 14 en 14.2 voor W.

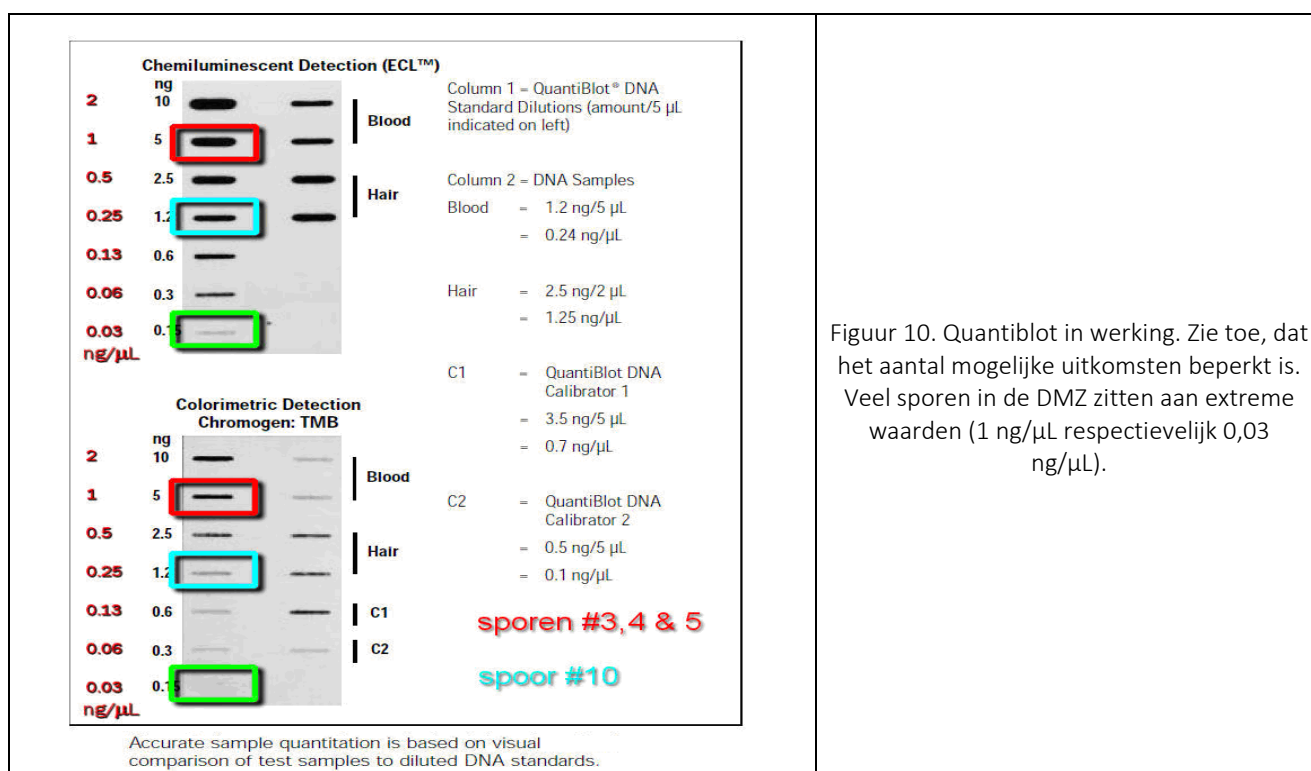


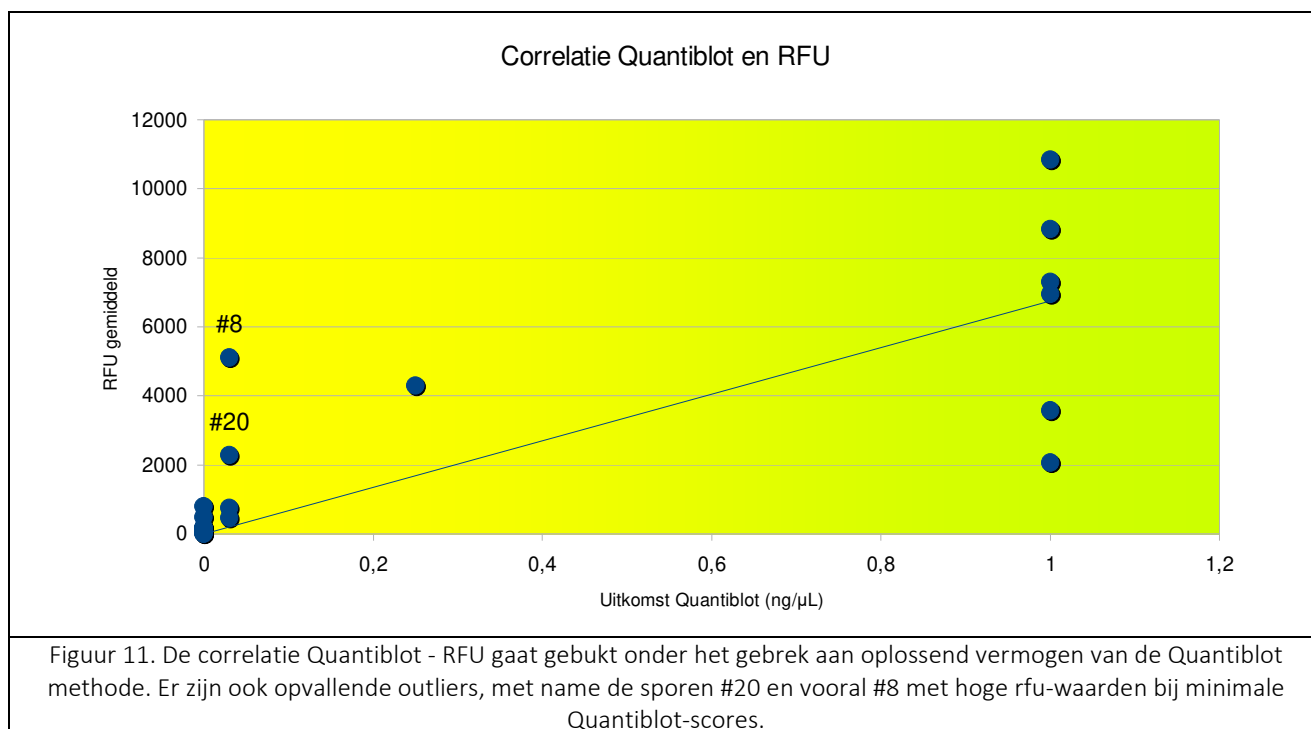
De uitkomsten van de metingen op deze drie loci voor de sporen in de DMZ vertonen een onderling consistent beeld:



6.2. Semikwantitatieve metingen

Het NFI voerde voorafgaand aan de PCR een semikwantitatieve bepaling uit. De resultaten werden gerapporteerd in de zogenaamde zakenformulieren. De methode, die werd gebruikt (dat moet wel Quantiblot geweest zijn) kent slechts een beperkt aantal uitkomsten, zodat de uitkomsten niet erg bruikbaar zijn. Toch heb ik de uitkomsten opgenomen, omdat ze een beperkte controlemogelijkheid op de overige resultaten bieden. En die controle roept vragen op, met name spoor #8 wijkt onverklaarbaar af. Ook spoor #20, dat heel laag scoort in Quantiblot wijkt teveel af voor het goede, ook al omdat de locatie van dit spoor in twee NFI-rapporten onderling van plaats wisselt.





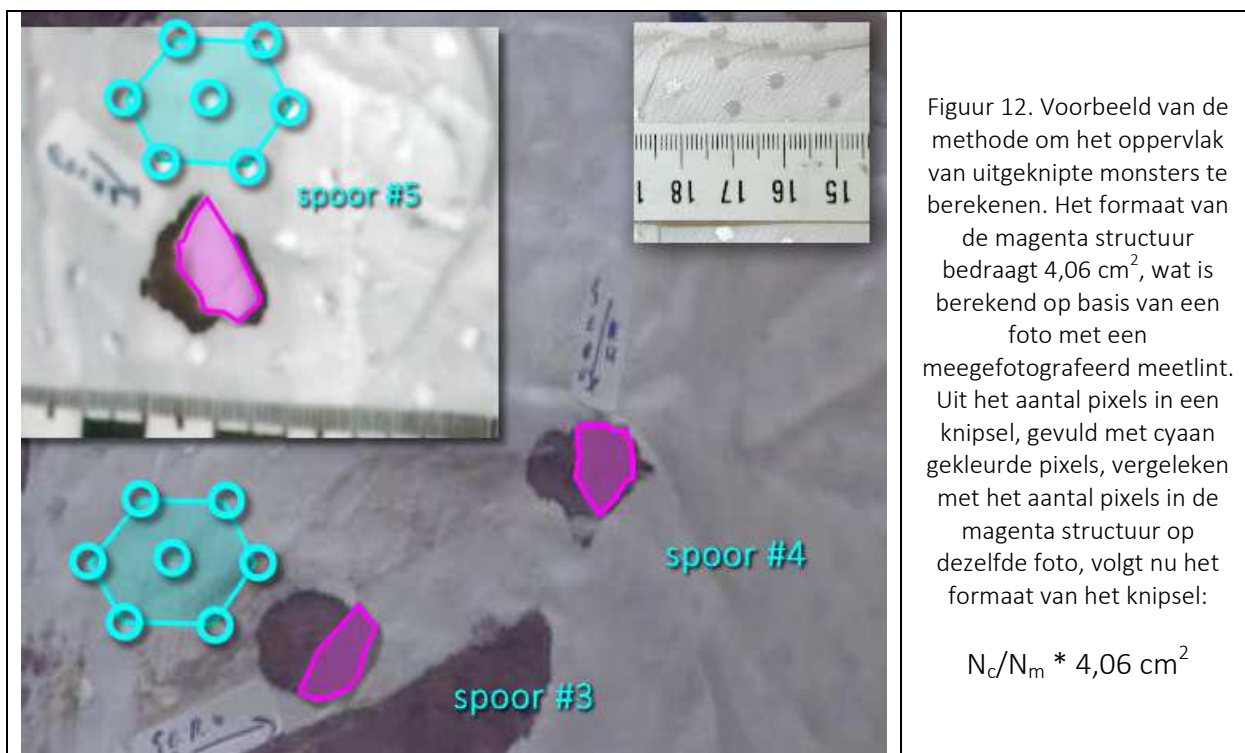
6.3. Correcties

Er zijn twee soorten correcties nodig:

6.3.1. Verschillen in bemonstering

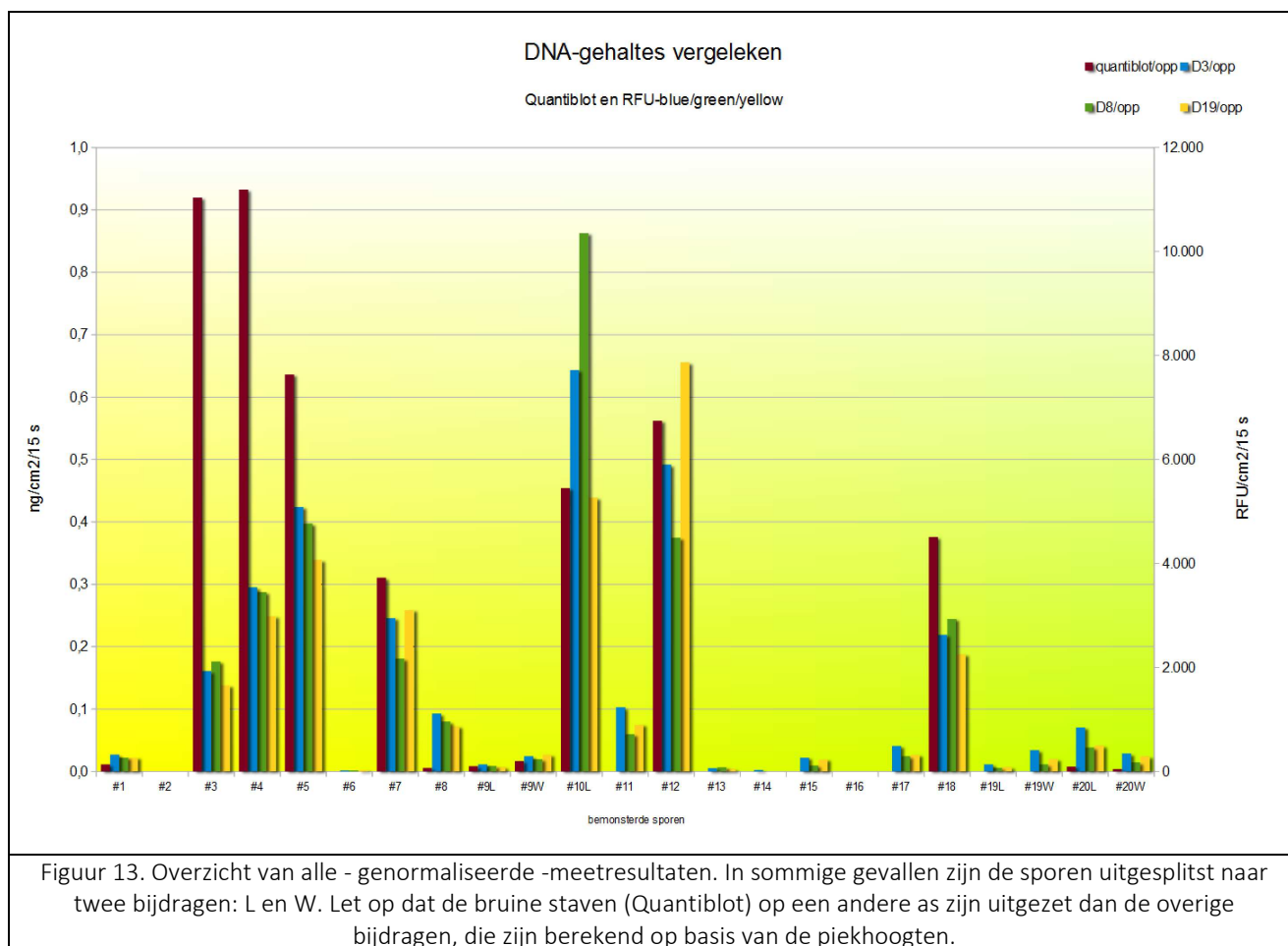
De DNA-monsters werden uit de stof van de blouse geknipt en vervolgens geëxtraheerd. De monsters zijn duidelijk niet alle even groot. Gebruikmakend van de omstandigheid, dat de blouse een hexagonale oppervlaktestructuur laat zien, kan op iedere beschikbare foto een referentie-oppervlak worden ingetekend en opgemeten. Deze referentie kan vervolgens worden gebruikt om de ware grootte van een uitgeknipt monster te berekenen.

De volgende stap is het normaliseren van alle meetwaarden naar 1 cm^2 monsteroppervlak.



6.3.2. Verschillen in injectietijd

De injectietijd bepaalt lineair de hoeveelheid opgenomen ionen tijdens de CE. Om verschillen in injectietijd te normaliseren, zijn de waarden zodanig omgerekend, dat ze de waarde weergeven alsof de injectietijd overal 15 s bedroeg (alleen de sporen #1 en #9 maken gebruik van een injectietijd van 25 s).



7. Resultaten en discussie

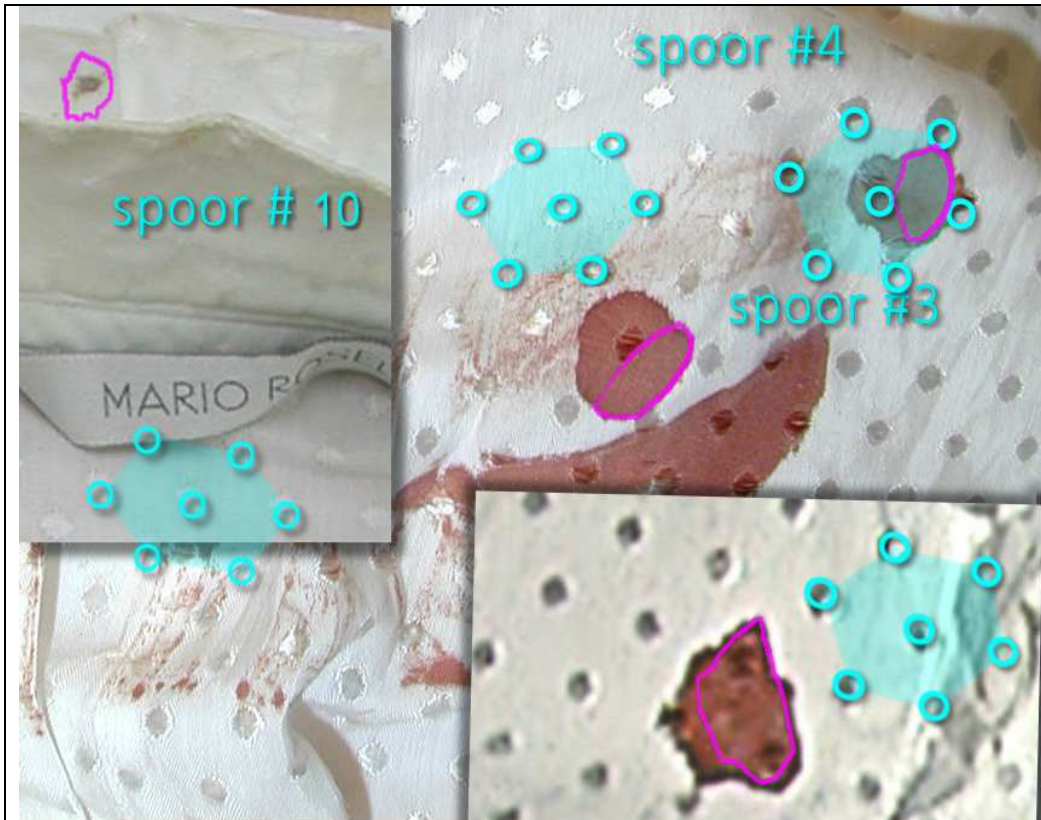
De vergelijking tussen de spoorsterkten wint aan relevantie, indien wij ze groepsgewijs nader bestuderen. Vooraf neem ik nog de gelegenheid te benadrukken, dat bij meerdere gelegenheden het NFI uitspraken heeft gedaan over de relevantie van de sterkte van aan de orde zijnde DNA-sporen zonder rigoureuze vergelijkingen met andere sporen te maken (sporen #10 en #20 met name). Dat gaat nu wel gebeuren.

7.1. De bloedsporen

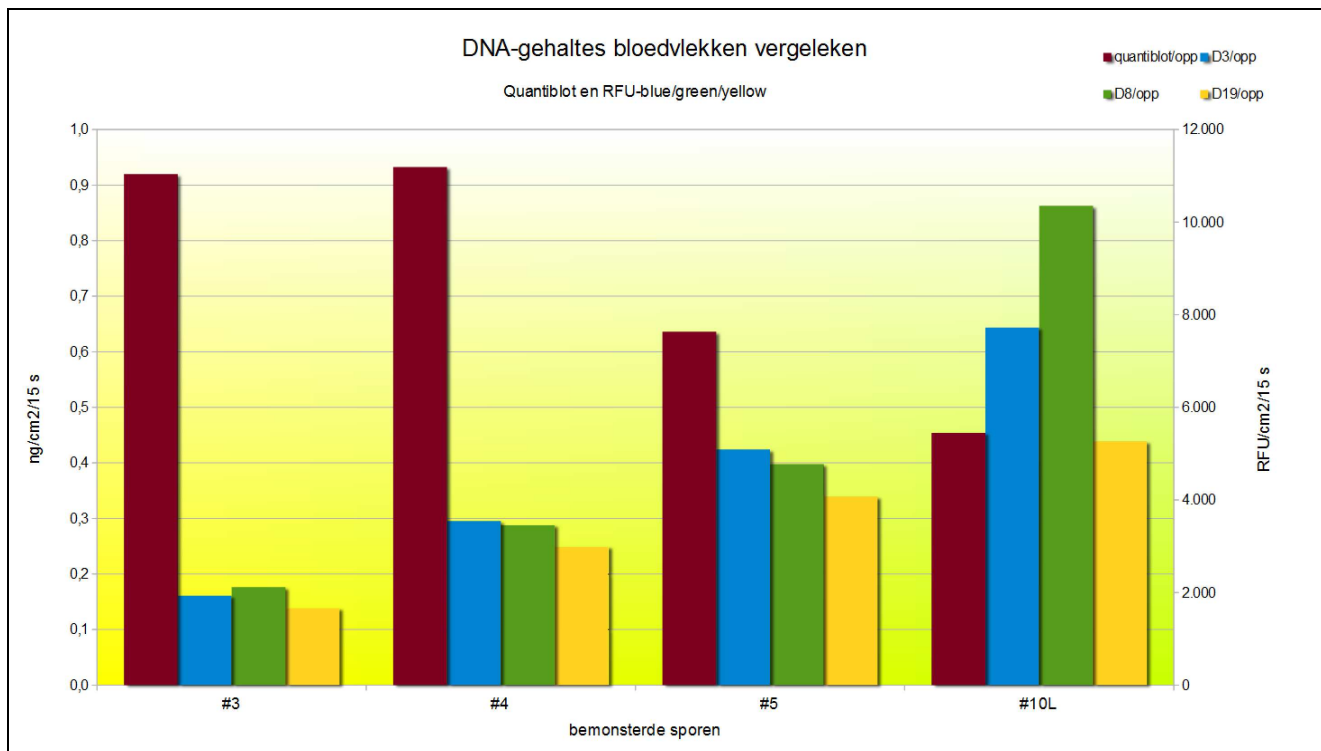
De sporen #3, #4 en #5 betreft de bemonstering van een aantal passieve bloeddruppels van W. Van deze sporen worden het DNA-gehalte per cm² vergeleken met dat van spoor #10, dat als bloedspoor werd toegeschreven aan L. Er zijn belangrijke verschillen in de monsternamen opgetreden, welk verschillen sterk onderbelicht zijn gebleven.

7.1.1. De afmeting van de monsternamen.

De monsters van de bloedvlekken #3, #4 en #5 waren 1 à 1,5 cm² groot, monster #10 was maar net groter dan 0,5 cm². De hoeveelheid aangetroffen DNA was echter ongeveer even groot, derhalve groter na normalisering. Alleen het DNA-gehalte via Quantiblot blijft hierbij achter, echter speelt de onnauwkeurige aflezing van Quantiblot vermoedelijk een rol. Worden de oppervlaktes en de intensiteiten van de bloedvlekken vergeleken (foto's), dan zou de verwachting moeten luiden, dat er in vlek #10 veel minder DNA zou worden teruggevonden.



Figuur 14. De besproken sporen met schaal aanduidingen. De DNA-intensiteit van spoor #10 is vergelijkbaar met die van de sporen #3, #4 en #5. Er zit echter veel minder bloed in.

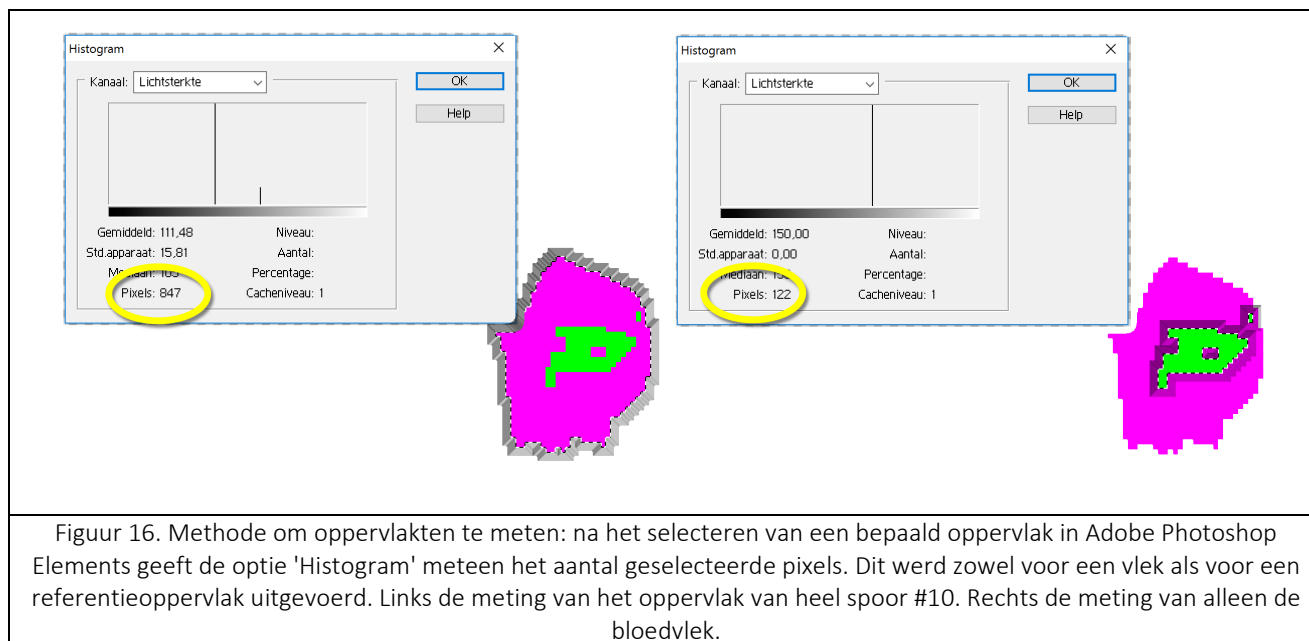


Figuur 15. De sterkten van de zogenaamde bloedsporen onderling vergeleken op basis van de knipselgrootte. Het knipsel van spoor #10 vertoont een gelijksoortige DNA-intensiteit als de sporen #3, #4 en #5. Echter, deze sporen bestaan puur uit bloed en spoor #10 vooral niet.

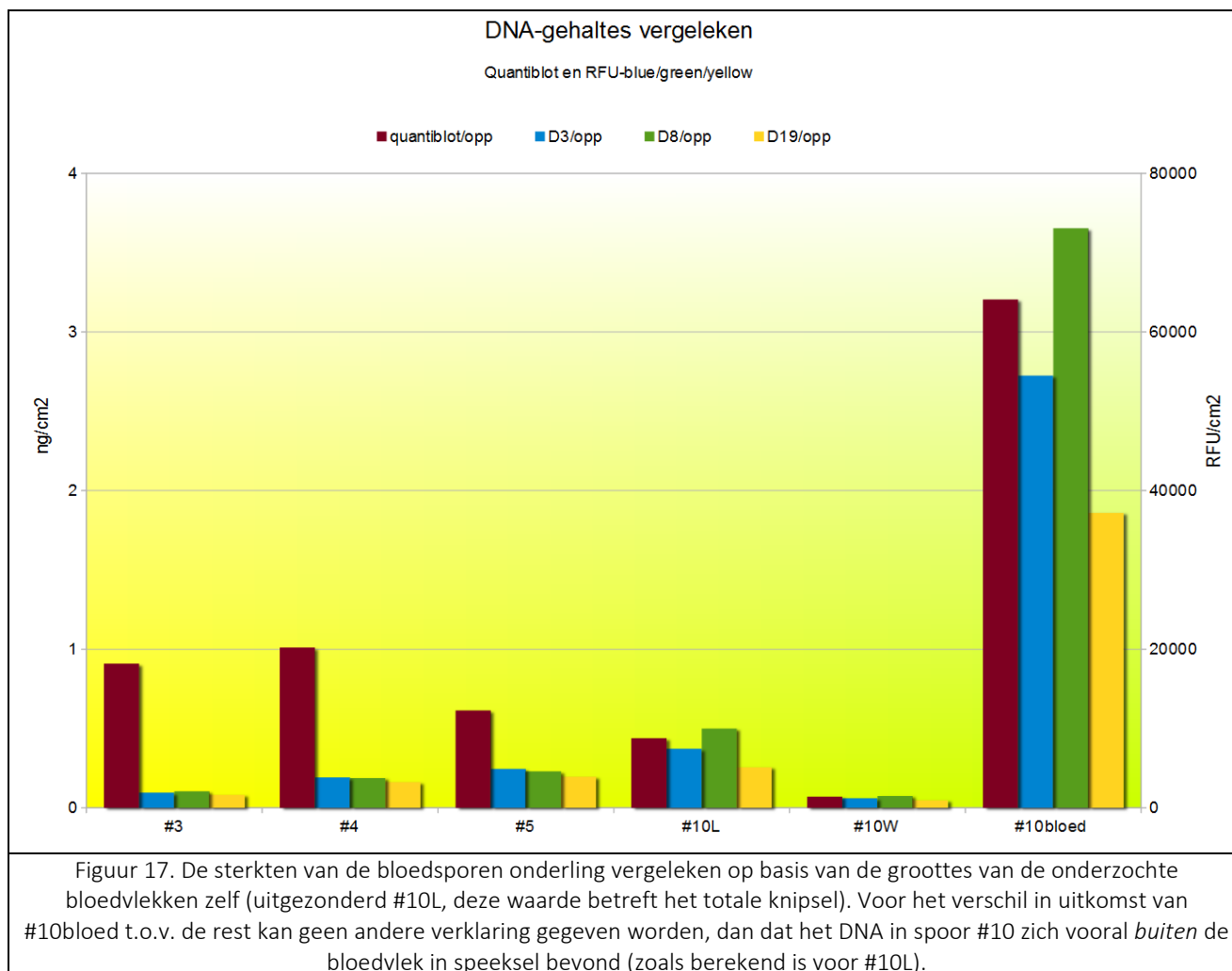
7.1.2. De wijze van de monstername.

De wijze waarop de monsters zijn uitgeknipt is significant verschillend. De monsters #3, #4 en #5 zijn zodanig uitgeknipt, dat (vrijwel) het gehele knipsel uit bloed(vlek) bestaat. Bij spoor #10 ligt dit heel anders; terwijl het knipsel 0,55 cm² groot is, ligt binnen dit knipsel een bloedvlek van 0,08 cm² groot. Gaan we nu mee in de suggestie van het NFI,

dat het gevonden DNA afkomstig is uit het bloed van L, dan moet er voor de DNA-intensiteit in die bloedvlek een nieuwe berekening worden uitgevoerd.



De uitkomsten zijn toegevoegd aan een nieuw diagram als #10bloed. Hierin is meteen te zien, dat de nieuwe uitkomsten volslagen irrealistisch zijn. Anders gezegd: een dergelijke hoeveelheid DNA kan nooit afkomstig zijn uit zo'n kleine bloedvlek.



Vervolgens heb ik gekeken naar de zogenaamde am-sporen, sporen in monster #10 die precies passen in het profiel van W, zoals weergegeven in de gele ovalen in figuur 21 en als zodanig geïdentificeerd door het NFI. Ook deze zijn berekend naar het oppervlak van de eigenlijke bloedvlek en ingepast als #10W.¹³ Zoals zichtbaar, liggen de uitkomsten hiervoor in dezelfde orde van grootte als het DNA-spoor van bloedvlek #3. Vooral significant, als men bedenkt dat spoor #3 een primaire bloedvlek betreft en spoor #10 volgens de onschuldpresumptie een secundaire bloedvlek (overdruk), waardoor een verlies aan DNA optreedt.¹⁴

Nog eens samenvattend: knipsel #10 vertoont een hoge DNA - intensiteit, vergelijkbaar met pure bloedvlekken. Tegelijkertijd vertoont het grootste deel van spoor #10 géén zichtbaar spoor. Indien de DNA gelijkmatig in dit spoor verdeeld is, dan zit het meeste DNA in een kleurloze depositie, zoals speeksel.

Zou het DNA wel uitsluitend uit de bloedvlek stammen, dan zou de DNA-dichtheid in dit bloed ongeveer 10x zo hoog zijn als in de bloedvlekken van #3, #4 en #5. Daarvoor bestaat geen rechtvaardiging, zeker niet binnen de casus, zoals deze in het kader van de DMZ is gepresenteerd.

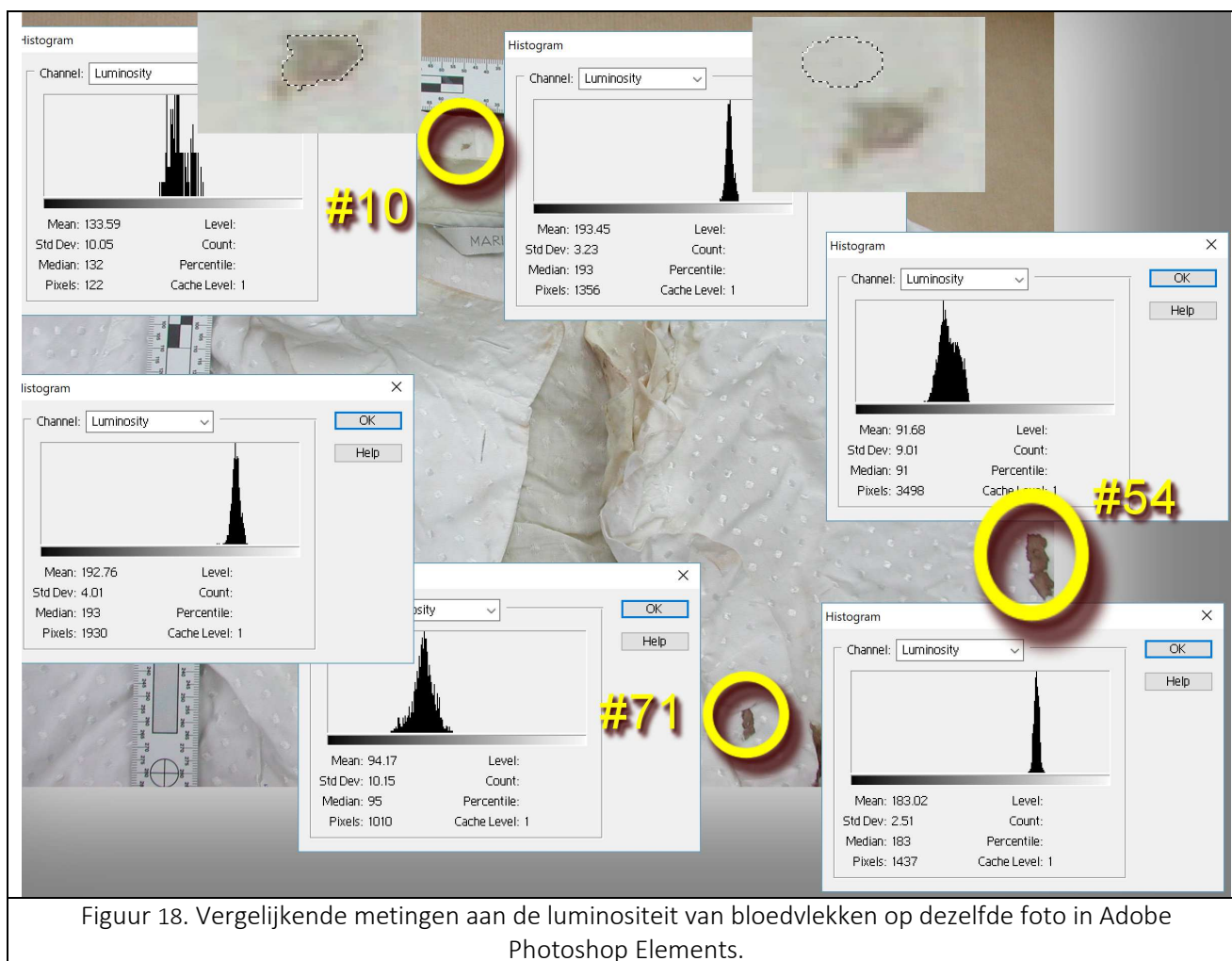
Zodra W als donor in beeld komt, ontstaan weer 'normale' waarden voor de bloedvlek. Nadrukkelijke aanbeveling: een soortgelijke analyse voor de sporen #29 en #42. Spoor #29, omdat het qua uiterlijk een evenbeeld is voor spoor #10. Spoor #42, omdat het nog kleiner is dan spoor #10 en een soortgelijke samenstelling en locatie vertoont.

7.1.3. De lage bloedvlek-intensiteiten in #10

De grafische methode, die werd gebruikt om de afmetingen van bepaalde oppervlakken te meten, bleek nog een belangrijke 'bijvangst' te bevatten. Van de geselecteerde oppervlakte wordt namelijk steeds ook de luminositeit gerapporteerd. Door de luminositeit van een afgebeelde bloedvlek (luit) te vergelijken met de luminositeit van een gedeelte van de blouse onmiddellijk ernaast (lin), kan een waarde voor de relatieve 'optische dichtheid' (meer algemeen betiteld als absorptie A) van de betreffende vlek worden afgeleid:

$$A = \log_{10} (I_{\text{lin}}/I_{\text{luit}})$$

De verhouding lin/luit draagt ervoor zorg, dat de wisselende belichtingsomstandigheden voor een belangrijk deel worden gecorrigeerd. Voor alle geraadpleegde foto's geldt, dat de gevonden bloedvlekken van onverdachte (dus rechtstreeks gedeponeerde) herkomst een waarde vertonen tussen de 0,24 en 0,35. Dat niet alle foto's precies dezelfde resultaten opleveren, zal te maken kunnen hebben met de ouderdom van de weergegeven bloedvlekken. Het gaat hier om foto's van de blouse op de plaats delict, in het mortuarium en in het laboratorium van het NFI. Hierin zijn ook de opnames van de druppelproeven op het blousemateriaal bij het NFI meegenomen. Alleen de waarden van vlek #10 en #42 (ook een zogenaamd overdrachtspoor) wijken sterk af met waarden van respectievelijk 0,16 en 0,13. Aangezien de metingen in dezelfde foto van vlek #10 en de 'gewone' bloedsporen #54 en #71 de waarden van achtereenvolgens 0,16, 0,30 en 0,31 vertonen, is conservatief geschat, dat de intensiteit van het bloedspoor in vlek #10 slechts 60% bedraagt van een op directe wijze veroorzaakt bloedspoor (zie figuur 18).



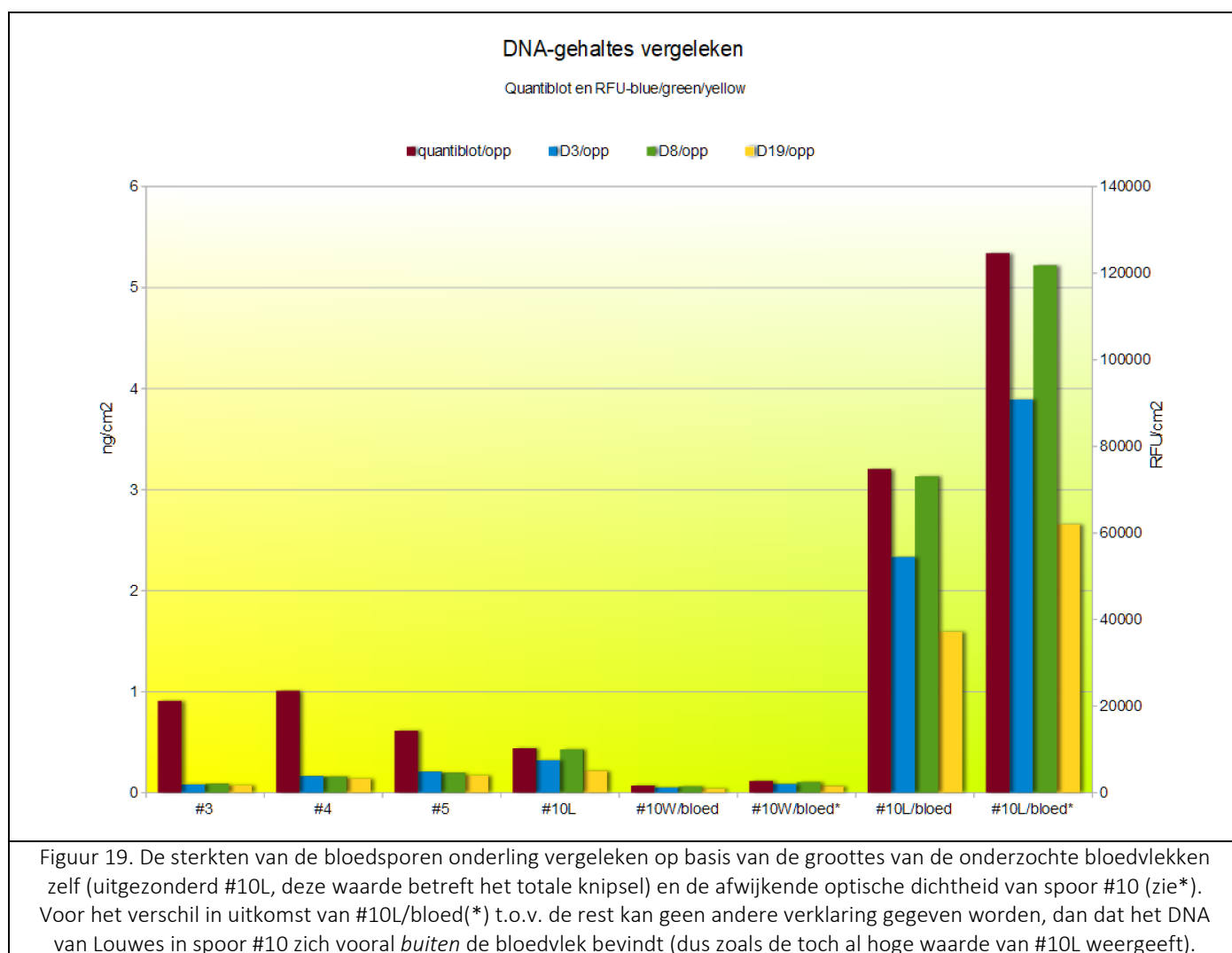
Figuur 18. Vergelijkende metingen aan de luminositeit van bloedvlekken op dezelfde foto in Adobe Photoshop Elements.

Met dit gegeven is een herberekening gemaakt van de DNA-waarden in relatie tot de grootte en intensiteit van de sporen, waarin dit DNA zich volgens de NFI-hypothese zou bevinden. In figuur 19 zijn de uitkomsten toegevoegd als #10L/bloed* en #10W/bloed* op basis van de hypothesen van het NFI en mijn hypothese (dat het bloed indirect van het slachtoffer afkomstig is) respectievelijk.

Nu blijkt de stelling, dat het bloed van Louwes de zichtbare vlek #10 heeft veroorzaakt eens te meer volstrekt onverantwoord, maar blijkt tevens het DNA-profiel van het slachtoffer in relatie tot de vlek grootte en de vlekintensiteit zich tussen de gevonden DNA-waarden in de vlekken #3 en #4 te bevinden - overduidelijk passieve bloedvlekken met bloed van het slachtoffer -, hetgeen de hypothese, dat het zichtbare bloed van het slachtoffer afkomstig is, overgedragen gedurende ongecontroleerde - namelijk niet gedocumenteerde - manipulaties van het slachtoffer in de avond van 25 september 199, nog eens ondersteunt. Manipulaties, die aan het licht kwamen door het vergelijken van foto's van de blouse op het plaats delict en op de autopsietafel 24 uur later (zie figuur 20, ook vastgesteld door het NFI, zonder hieraan gevolgen te verbinden¹⁵). Om deze hypothese kracht bij te zetten, toont figuur 22 een profiel, dat is berekend op basis van het wangslim profiel van L, gemengd met 10% van het profiel van het bloedmonster van W. Tot in de details is er een match met het profiel in spoor #10 (vergelijk de figuren 21 en 22)!

Later (NFI 2006) werd ook nog spoor #42 aan bloed van Louwes toegeschreven. De omvang en intensiteit van deze vlek zijn echter dermate klein, dat volgens de hypothese, dat het DNA uit het bloed afkomstig zou zijn, de DNA-intensiteiten hierin slechts ca. 1 % van de DNA-intensiteiten in de sporen #3 en #4 zouden mogen vertonen.

De hoogste RFU's in spoor #4 liggen rond de 4000 RFU, die van #42 zouden dan op 40 RFU liggen, dus reeds onder de detectiegrens van 50 RFU en dat alleen voor de (twee) hoogste pieken. Naast het NFI voerde ook het FLDO een autosomale analyse van spoor #42 uit. Het NFI vond alleen maar kenmerken van Louwes, maar het FLDO vond kenmerken van Louwes (17) en daarnaast ook kenmerken van het slachtoffer (6) en kenmerken waaraan beide donoren kunnen hebben bijgedragen (ook 6). Dus maakte het hier uit, bij welk instituut het DNA-spoor werd getest. Intussen maakt dit resultaat het volstrekt mogelijk, dat het zichtbare bloedspoor afkomstig is van bloed van het slachtoffer en het DNA van Louwes uit onzichtbaar speeksel stamt. Het extract van het vergelijkbare spoor #10 werd nooit aan het FLDO aangeboden, hoewel het bij de verzending van de monster voor de eerste contra-expertise van het FLDO al beschikbaar was. Dat had meteen een hele hoop ellende kunnen voorkomen. ook bij de contra-expertise in 2006 werd om dit spoor genegeerd (evenals spoor #20 met name).

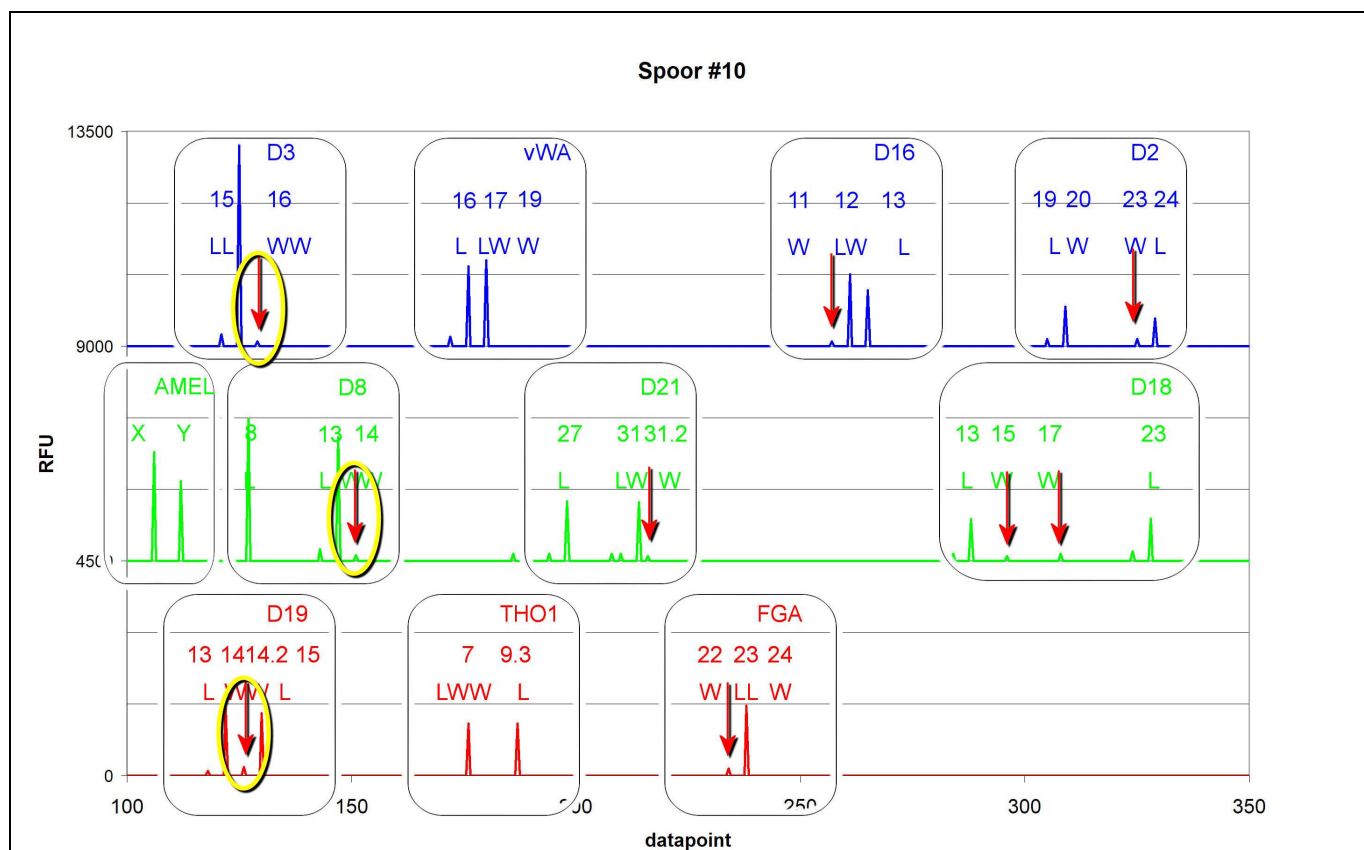




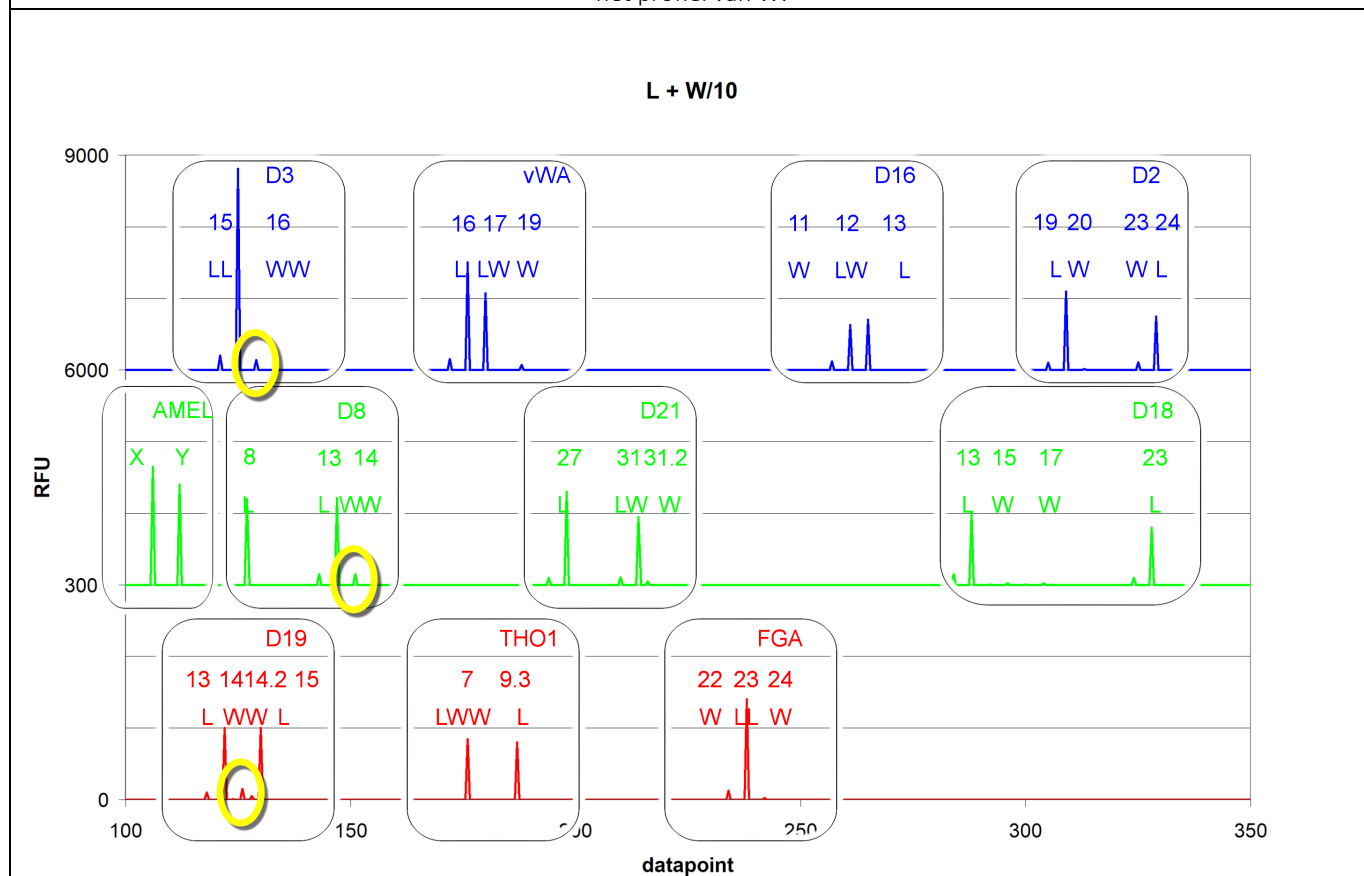
Figuur 20A.
Linksonder:
blouse 24 uur na
de ontdekking
van het delict,
met sporen van
recent (na het
delict)
overgedragen
bloedvlekken
(rood). De andere
foto's zijn direct
gemaakt op de
plaats delict 25
september 1999.
In groen
oorspronkelijk
aanwezige
bloedsporen.
Merk op, dat de
conditie van de
blouse sterk is
teruggelopen.



Figuur 20B. De
foto van de
blouse op de
sectietafel geeft
maar een beperkt
inzicht in de
proliferatie van
bloedvlekken.
Hier een
totaaloverzicht
van bloedsporen,
die er op de
plaats delict
(1999) nog niet
waren en bij het
NFI (2003)
intussen wel.



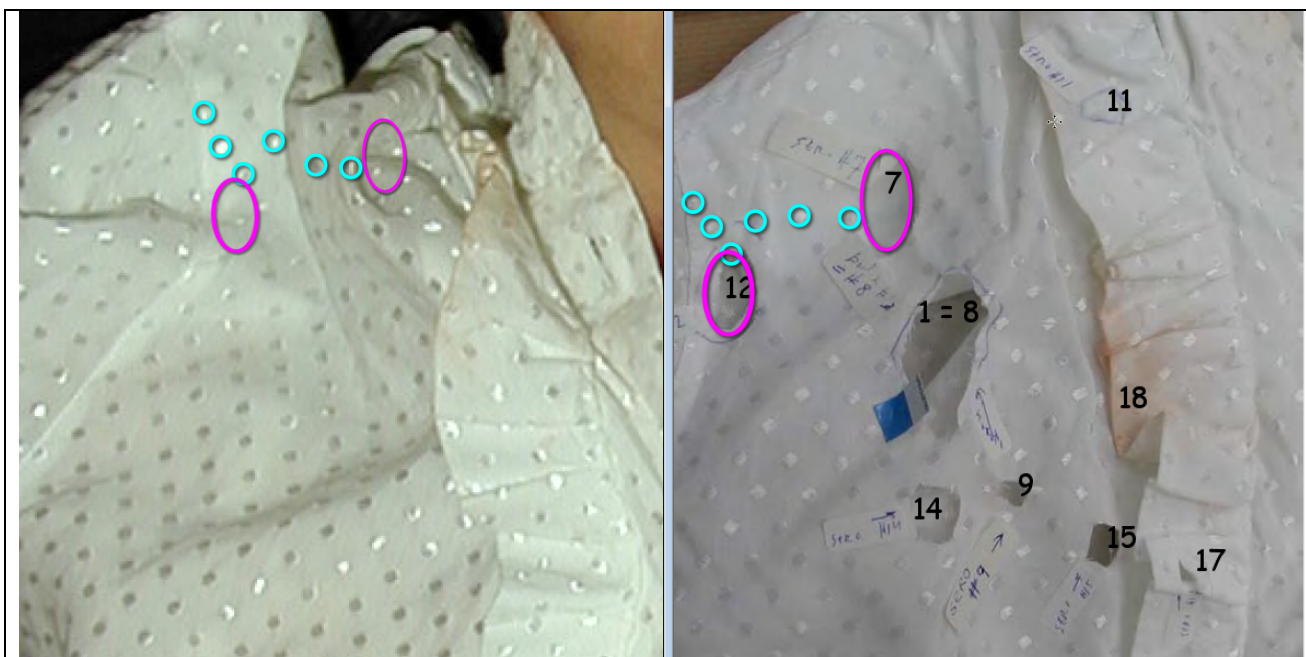
Figuur 21. Profiel van spoor #10. Rode pijlen geven aan welke posities overeenkomen met het profiel van W. De sporen in de gele ovalen werden door het NFI speciaal geormerkt als behorend tot dit spoor zonder aan te geven, dat ze ook behoren tot het profiel van W.



Figuur 22. Reconstructie van een profiel, samengesteld uit the profiel van L in wangslijm, gecombineerd met 10% van the profiel van W uit een bloedmonster (zie figuur 8). Vergelijk met figuur 21 om de treffende overeenkomst te bevestigen.

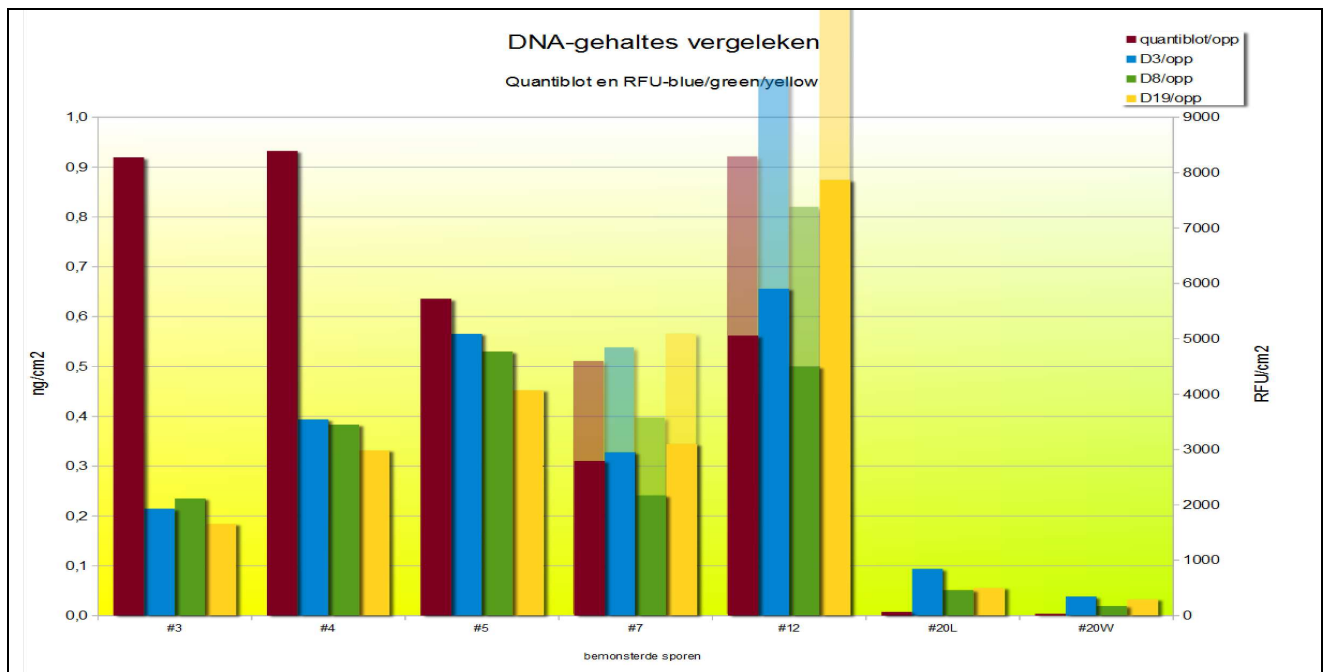
7.2. De greepsporen

Het NFI betitelde spoor #20 als greepspoor. De bijdrage van W werd verklaard door geweldsuitoefening door de dader op de betreffende locatie; door intens contact met de blouse werd het DNA van W op de blouse overgedragen. De DNA-vondst van W werd ook nog eens verklaard door de aanwezigheid van bloed uit de steekwonden in de onmiddellijke omgeving. Foto's laten overigens zien dat er geen bloed op de locatie zelf zat, wel een vage lichtrode vlek. Het Hof heeft in het arrest bewezen verklaard, dat het bloed pas op het laatst was vrijgekomen, dus van enige inconsistentie is hier wel sprake. De bijdrage van L - wezenlijk groter - zou veroorzaakt zijn door dezelfde geweldsuitoefening, waarbij DNA uit zijn huidcellen zou zijn overgedragen. Hiervoor zou hij eerst zijn vingers gezet in de make-up van het slachtoffer en vervolgens op de locatie, waar spoor #20 werd aangetroffen. Binnen het totale pakket aan DNA - sporen bleven de sporen #7 en #12 in dit verband volkomen onbesproken. Deze sporen bleken in absolute zin echter de hoogste DNA-waarden van W te bevatten (rfu rond 10.000), zo hoog dat zich - identieke - anomalieën in beide profielen voordeden. Er was sprake van overloading, zichtbaar door afgestompte pieken en colour bleeding. Omdat de sporen boven de 'limit of linearity' liggen, zullen de afgelezen waarden vermoedelijk een factor twee te laag zijn uitgevallen in vergelijking tot de andere sporen. Deze hoge waarden in overtreffende trap lagen dus alle in het profiel van W. Op de plaats van deze sporen bevonden zich oplichtende vlekken, die echter met het blote oog op de foto's onzichtbaar zijn. De positie van de sporen maakt het aannemelijk, dat ze gezamenlijk deel uit maakten van een groter complex, met daaraan gekoppeld een enorme DNA - depositie.



Figuur 23. Positie van de sporen #7 en #12 op de blouse van 25 september 1999 en eind december 2003. De ligging van deze sporen suggereert, dat hier sprake is van een veel omvangrijker depositie met DNA van het slachtoffer. Tussen deze sporen werden geen andere monsters genomen.

Als we ervan uitgaan, dat spoor #20 daadwerkelijk is gevormd door geweldsuitoefening, dan ligt het voor de hand, deze aanname ook voor de sporen #7 en #12 te onderzoeken. In het sectierapport bevinden zich aanwijzingen, die deze aanname rechtvaardigen. Nu doet zich daarbij de complicatie voor, dat in de sporen #7 en #12 slechts enige cellen van L gevonden zijn en wel op basis van Y-str onderzoek en verder geen enkel ander spoor. Ofwel, hier had de dader zich wel succesvol beschermd tegen DNA-overdracht, terwijl dat bij het veel zwakkere spoor #20 niet zou zijn gelukt. Een duidelijke inconsistentie dus.



Figuur 24. DNA-intensiteiten in de sporen #7 en #12 vergeleken met deze waarden in de bloedsporen #3, #4 en #5. Voorts zijn de DNA-intensiteiten in spoor#20 opgenomen, uitgesplitst naar de bijdragen van Louwes (L) en het slachtoffer (W). Het effect van overschrijding van de 'limit of linearity' in de sporen #7 en #12 is als indicatie opgenomen.



Figuur 25. Links: Greepspoor op de rechter schouder van het slachtoffer, precies onder de sporen #7 en #12. De betekenis van dit spoor, al of niet in combinatie van de sporen #7 en #12 is nooit aan de orde gesteld, met name niet door het NFI. Rechts: een vergelijkbaar niet nader geduid spoor op de rechter onderarm.

Op basis van vergelijking is spoor #20 veel te zwak, om ook deze op geweldsuitoefening terug te voeren. Daar komt nog bij, dat spoor #20 ook nog eens door het NFI werd opgevoerd als DNA-spoor in de categorie lichtrode vlekken, een categorie, welke heel andere karakteristieken vertoont, zoals de volgende paragraaf laat zien.

7.3. De lichtrode vlekken.

Deze groep werd aanvankelijk gepresenteerd als een homogene groep sporen met een gezamenlijke oorsprong, in de speculatie van het NFI was dit make-up, dat de dader vanaf een niet nader beschreven plek zou hebben verplaatst naar de blouse. Er was geen aandacht voor de omstandigheid, dat deze kleur vlekken ook elders op de blouse zichtbaar was en daar soms ook werd onderzocht op DNA, zij het pas in 2006 (en negatief).

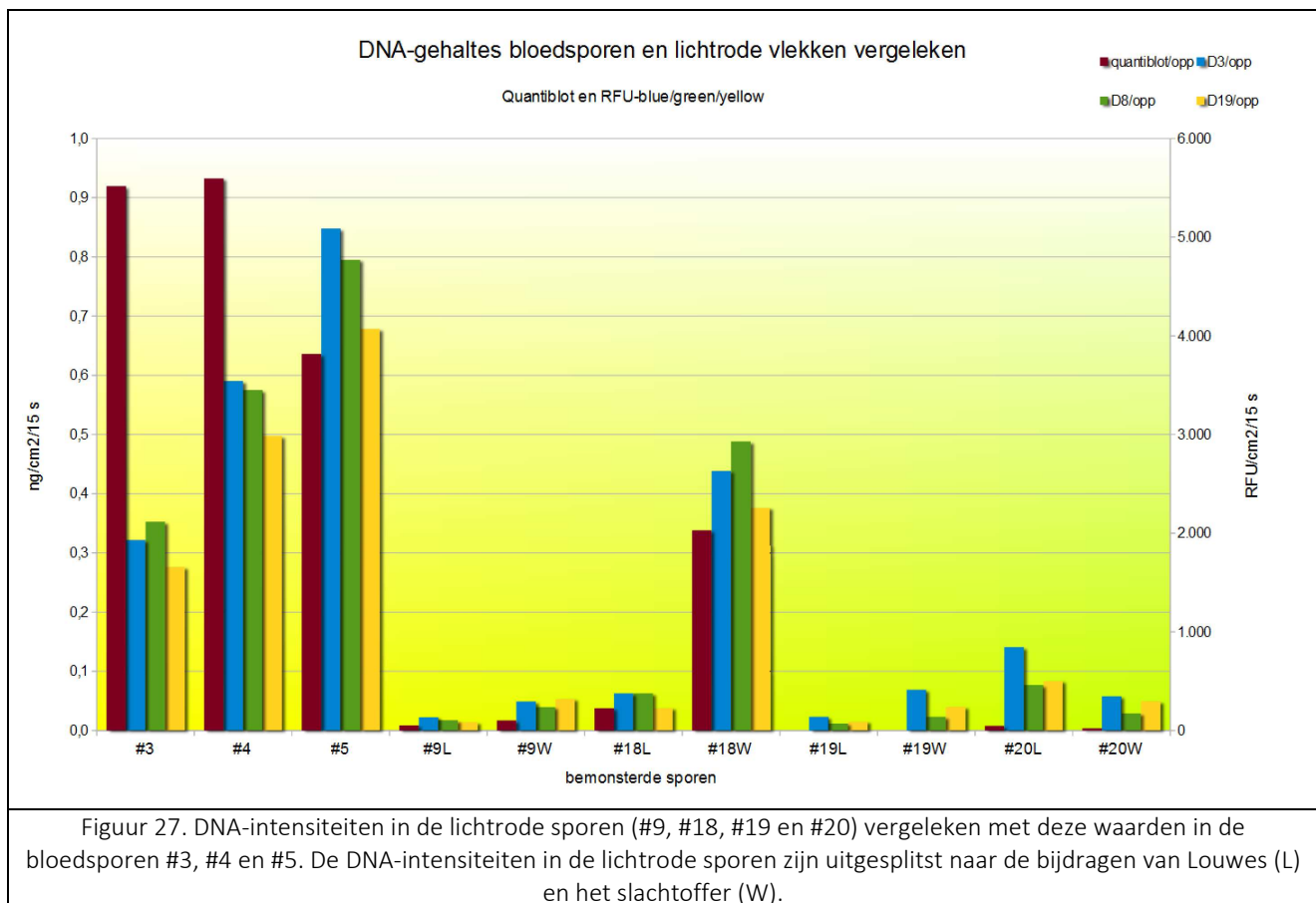
Van de wel onderzochte sporen kan men zich alleen van spoor #18 een beeld vormen, van de overige sporen zijn alleen behoorlijke foto's bekend, nadat de sporen al waren uitgeknipt. Vooral de kleurnuance en -intensiteit laten te raden over. Zoals zichtbaar op de wel bekende foto's vertoont spoor #18 een grote mate van overeenkomst met enige sporen elders op de blouse, waarvan de belangrijkste (linker bovenarm) in 2006 werd betiteld als bloedspoor (met alleen een profiel van W) en een andere - die rond de centrale knoop - pas werd gevormd, nadat het slachtoffer was gevonden (tot in de avond van 25 september 1999 is deze plek nog helemaal schoon). De dag erop werd het slachtoffer op de autopsietafel gelegd en bleken alle knopen van de blouse te zijn losgeknoopt. De rechter kraagpunt is op de plaats delict wel al lichtrood, maar werd niet op DNA onderzocht echter wel afgeknipt (ten behoeve van een chemische analyse, die nooit werd uitgevoerd subsidiair niet werd gerapporteerd).



Figuur 26. Boven. Alle geel gemarkeerde locaties werden in 2003/4 bemonsterd als de lichtrode vlekken. De groene in 2006 als bloedvlekken. De rode locaties werden nooit bemonsterd. Rond de knoop is een lichtrode vlek zichtbaar, die op de plaats delict er nog niet was. Deze is dus achtergelaten door onderzoekers. Dan kan ook voor andere sporen die niet zichtbaar zijn op de foto's van de plaats delict gelden (#9, #19 en #20).



Onder. Onder UV licht werd een rijkdom aan nieuwe details zichtbaar. Niets hiervan werd op adequate wijze aan de orde gesteld tijdens het proces van Den Bosch (2003/4).



Zoals valt af te lezen, vormt deze categorie sporen geen homogene groep, daarvoor springt spoor #18 teveel uit de band. Dit spoor lijkt meer op een bloedspoor qua DNA-intensiteit, waarbij de achterblijvende intensiteit volgens Quantiblot weer moet worden toegeschreven aan het gebrek aan oplossend vermogen van deze methode (spoor #18 werd gelijk aan de bloedsporen op 1 ng/μL geschat, maar het knipsel is fors groter). Uit deze vergelijking laat zich gemakkelijk een concurrerende hypothese ontwikkelen.



Figuur 28. Spoor #18 vlnr: 25 september 1999 en eind 2003 (2x), zowel buiten- als binnenzijde.

Daarin is spoor #18 een vlek met bloed, dat echter zodanig is gemodificeerd, dat deze zijn kleur grotendeels heeft verloren. Ofwel heeft de dader bepaalde bloedsporen, vroeg tijdens

het delict ontstaan, trachten weg te moffelen, waarbij een verbinding van bloed met schoonmaakmiddelen is ontstaan. Voor die hypothese zijn vele - overigens pover onderzochte - bewijsmiddelen aan te voeren.

- Nadat het slachtoffer was overleden heeft zij geruime tijd in een andere lichaamshouding gelegen, als waarin zij later werd aangetroffen.
- Er zijn vochtsporen gevonden in de gang en in de woonkamer.
- De kleding (blouse, vest) is omhoog verschoven, alsof zij aan de voeten werd voortgetrokken.
- Sporen op de blouse wijzen erop, dat het vest vol met vocht zat.



Figuur 29. Alle sporen, die lichtrood of bruin zijn of die - volgens het NFI - bloed als ingrediënt hebben, vertonen een kleur, die valt binnen de veelheid aan kleurvariëteiten, die bekend zijn van ammoniumijzer(III)citraat.

De hypothese hier luidt, dat de zichtbaarheid van spoor #18 wordt veroorzaakt door ijzer(III)-ionen, verbonden met ammoniumionen en citraationen. Daardoor verliest de oorspronkelijk aanwezige hemoglobine zijn oorspronkelijke - bijna zwarte - kleur en wordt het vervangen door een ijzer(III)-complex met een veel lichtere tint. Zo is ijzer(III)citraat soms gewoon geel. Omdat ijzer(II) complexen met meerdere 'partners', zoals citraat- en ammoniumionen, in veel verschillende getalsverhoudingen kunnen complexeren, zijn er zoveel kleurvariëaties mogelijk. De hier opgesomde verbindingen zijn ook nog eens heel goed oplosbaar in water. Een dergelijk complex is niet langer herkenbaar voor de specifieke bloedtest, wegens het ontbreken van hemoglobine.

De aanwezigheid van ijzer in de lichtrode vlekken werd in 2006 door het NFI gerapporteerd, overigens onder het noemen van een andere component, namelijk titanium. In dit verband is het belangrijk op te merken, dat de blouse voor een belangrijk deel uit viscose was samengesteld en dat titanium(IV)oxide (titaanwit) een gangbaar vulmiddel voor dit soort garens is. Meer details leverde het NFI-onderzoek niet op.

7.3.1. De controle-monsters

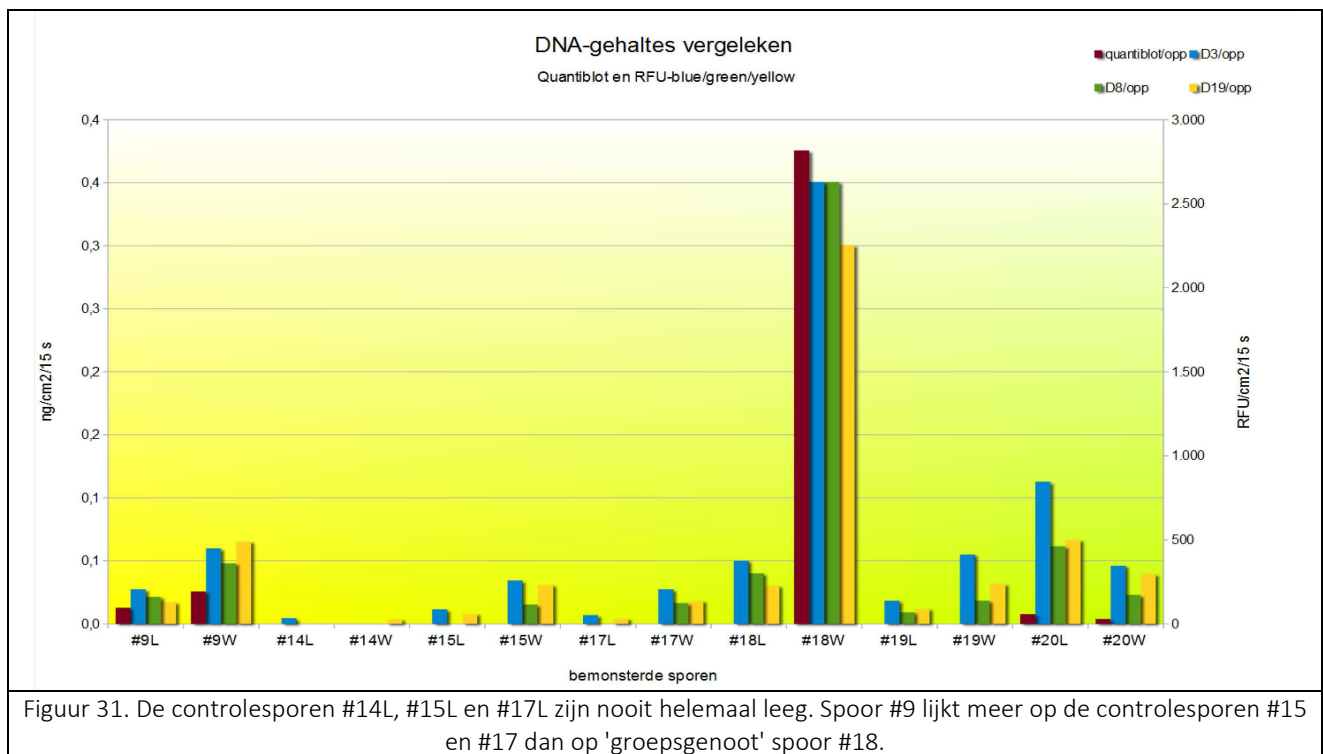
Om de hypothese over de herkomst (make-up) en ontstaansomstandigheden (tijdens geweld) kracht bij te zetten nam het NFI een aantal controle monsters:

"Om een uitspraak te kunnen doen over het type celmateriaal dat verantwoordelijk is voor de bijdrage van de mannelijke DNA-markers in het verkregen DNA-mengprofiel van de bemonstering [ARA952]#9, de lichtrode substantie, zijn in de buurt van deze vlek op de blouse S12 vier controlemonsters genomen. Met controlemonsters worden hier bedoeld monsters die genomen zijn op plaatsen waar met behulp van lichtbronnen, het

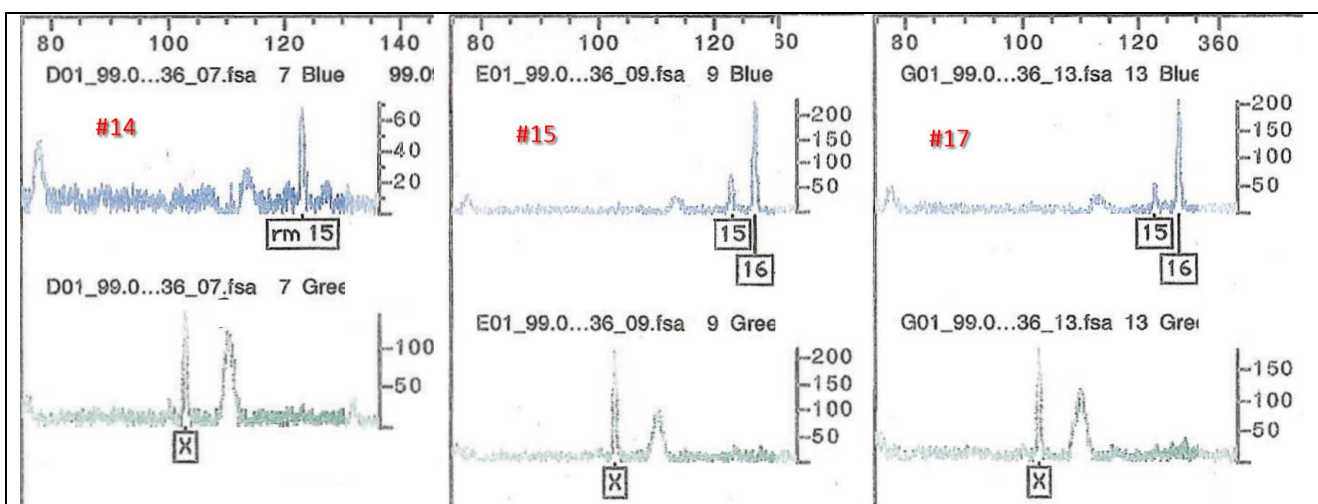
Figuur 30. De directe omgeving van spoor #9. Alleen in spoor #11 is geen enkel spoor van Louwes aan te wijzen. De groen gemerkte sporen werden niet als controlesporen beschouwd, de rode wel. Merk op deze niet willekeurig rond #9 verdeeld zijn, in strijd met een geldige wetenschappelijke aanpak.

"Dat de lichtrode vlekken misdrijfgerelateerd zijn is immers wel uiterst waarschijnlijk. Als dan in die lichtrode vlekken DNA materiaal van veroordeelde wordt aangetroffen en elders niet of in beduidend mindere mate vormt dit een zwaarwegende aanwijzing tegen veroordeelde, ook als het DNA materiaal te herleiden zou zijn tot speeksel of transpiratie." (Conclusie inzake de Deventer Moordzaak 20 maart 2007).

Was er echt geen DNA van Louwes in die controlevlekken?



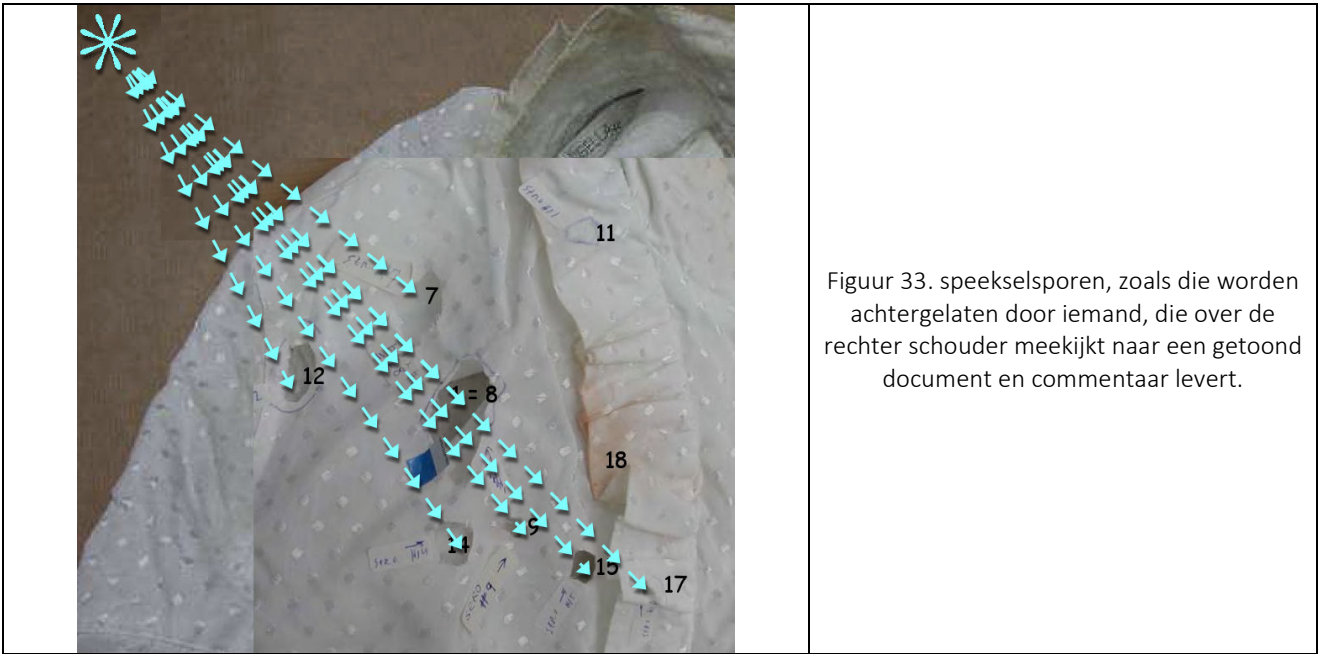
Deze vraag roept om een nadere analyse: in 4.1. werd gedemonstreerd, dat piekhoogten zeer sterk afvallen in de eerste minuten van een capillaire elektroforese. De kleinste DNA-fragmenten kunnen nog wel opboksen tegen de concurrentie van allerlei andere ionen, de iets grotere fragmenten hebben het veel moeilijker. Al heel snel worden de bijbehorende pieken zo laag, dat ze in de achtergrondruis 'verdrinken'. In de praktijk van de controlesporen #14, #15 en #17 blijft alleen spoor D3 overeind, maar dat is nu juist het best zichtbare spoor. Dit spoor is in alle controlesporen navijlsbaar. Niet in voldoende mate om een *positieve* identificatie te rechtvaardigen, maar wel genoeg om *geen volstrekt negatief* oordeel te kunnen vellen. Toch werd dit gedaan (De uitspraak '*absence of proof is not the proof of absence*' was zelden meer toepasselijk).



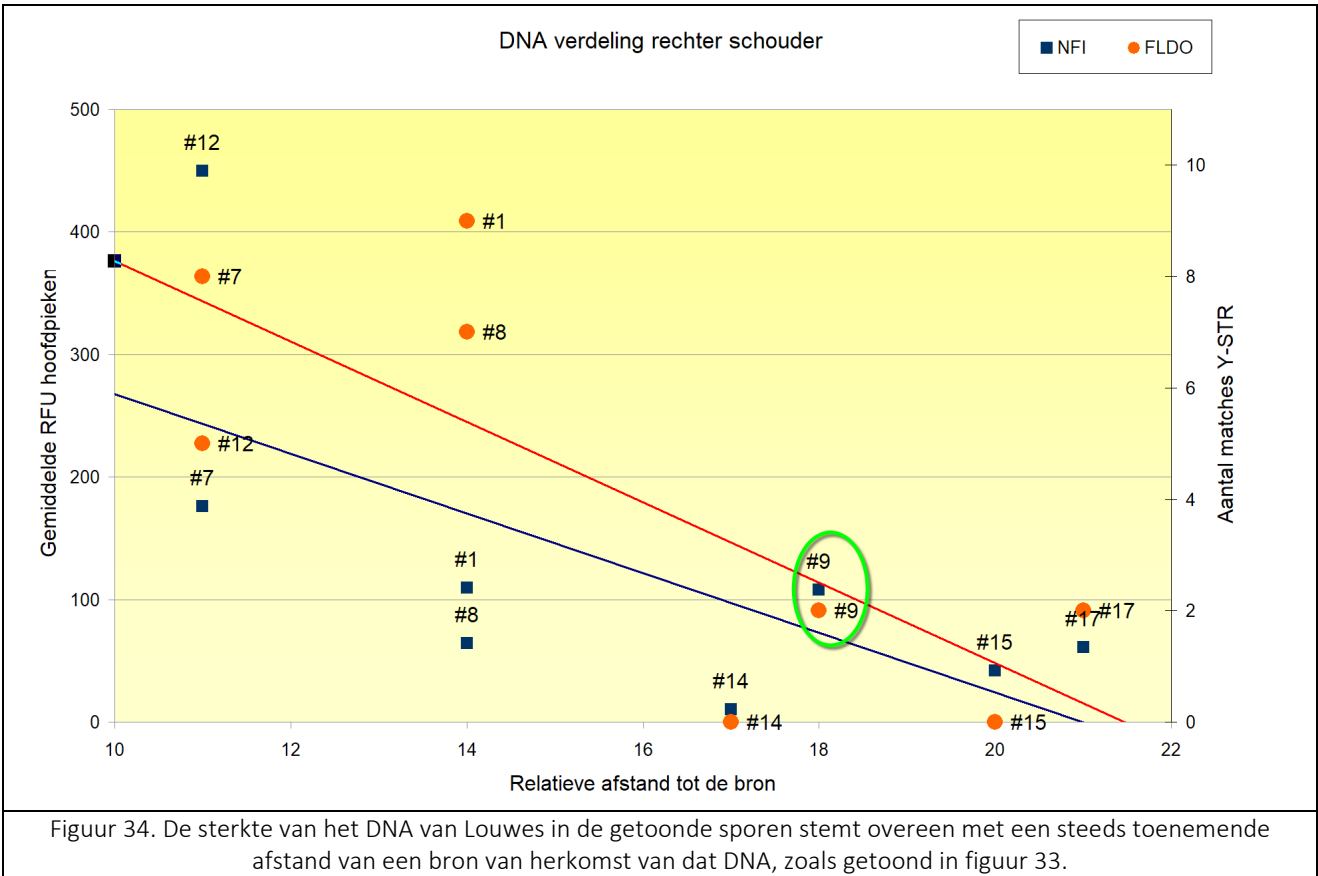
Figuur 32. In alle controlesporen is de piek 15D3 van Louwes aanwezig. In #15 en #17 is deze groter dan de stutter-waarde. In #14 is de piek zelfs alleen aanwezig. Ook staat er naast het X-amel een piek in de profielen op de locatie van het Y-amel. In #14 is deze even hoog als het X-amel, in overeenstemming met de situatie in D3. Het Y-amel heeft geen oormerk gekregen, maar ziet er precies hetzelfde uit als de piek in #13, waar deze wel werd geormerkt.

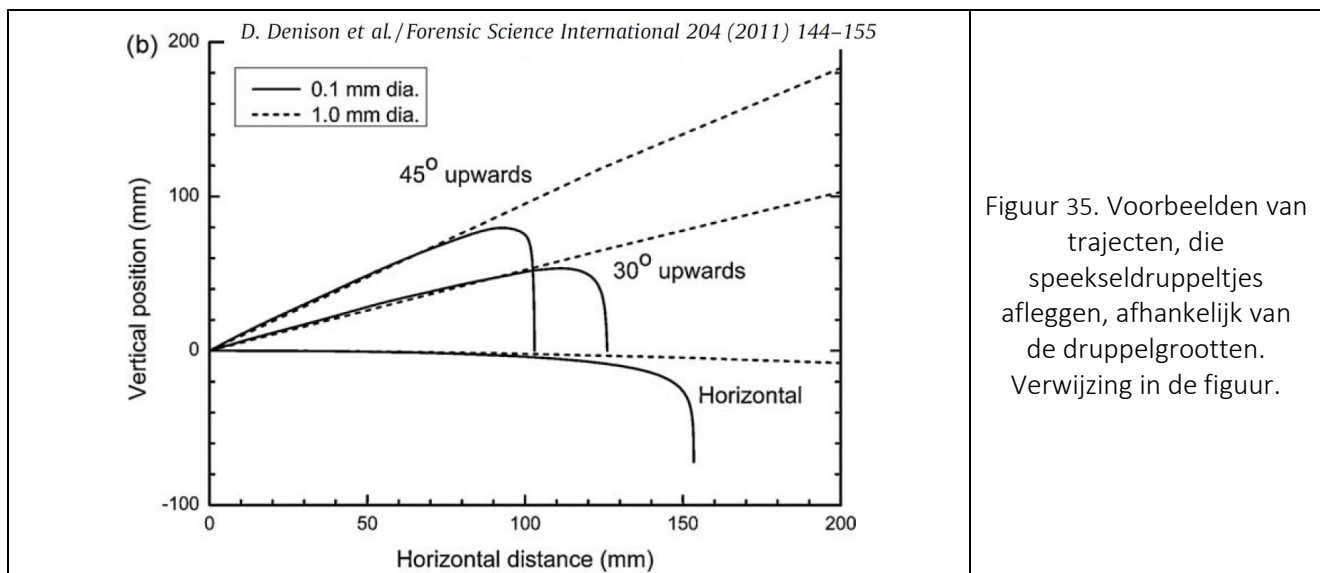
Er is meer. Niet alleen zijn er sporen van Louwes aanwezigheid in de controlesporen, ze laten ook een logisch verloop zien op basis van de veronderstelling, dat Louwes over de

schouder van het latere slachtoffer meekeek naar een document, dat ze hem destijds toonde en waarop commentaar kon worden verwacht.



Met behulp van figuur 33 is het mogelijk een diagram samen te stellen met de afstand van de sporen tot een bron achter de schouder en de sterkte van het DNA-gehalte in de sporen. Hiervoor zijn twee waarden gebruikt. Eerst natuurlijk weer de gemeten pieken in de DNA-sporen van het NFI. Voorts zijn er zogenaamde Y-STR bepalingen gedaan door Dr. P. De Knijff van het FLDO. Deze zijn niet kwantitatief, maar eerder kwalitatief, in de zin, dat ze weergeven hoeveel matches de profielen hebben opgeleverd. Op zich is dat weer een kwantitatief gegeven, dat is toegepast op de hier getoonde sporen.





Figuur 35. Voorbeelden van trajecten, die spekseldruppeltjes afleggen, afhankelijk van de druppelgrootten. Verwijzing in de figuur.

7.3.2. De crime-scope

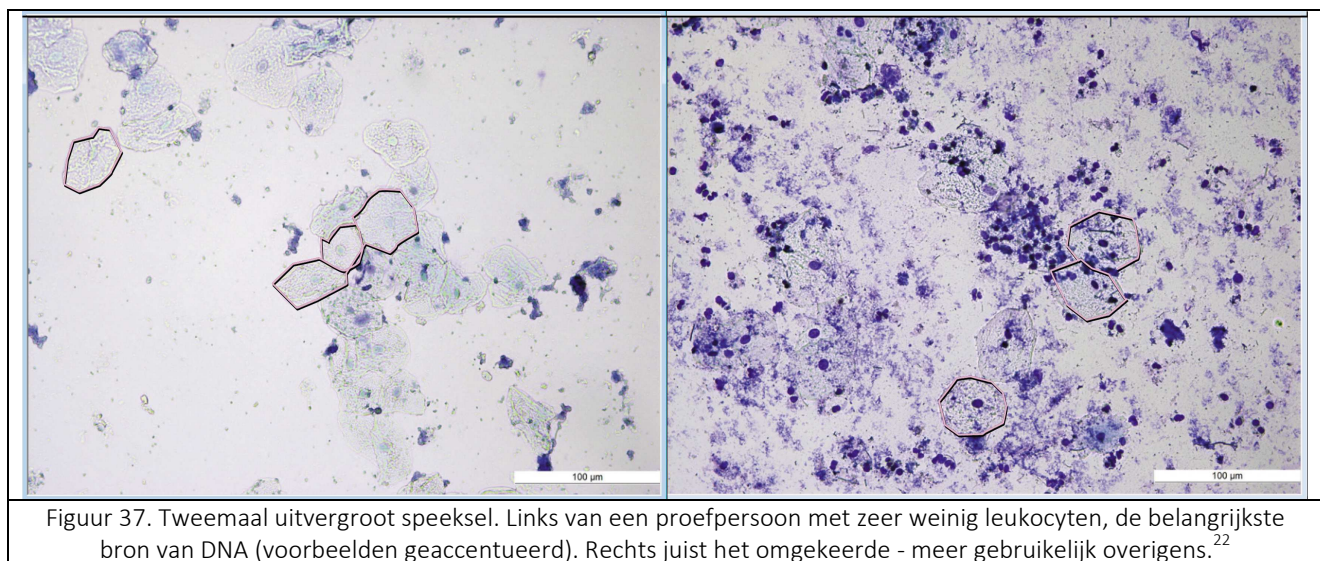
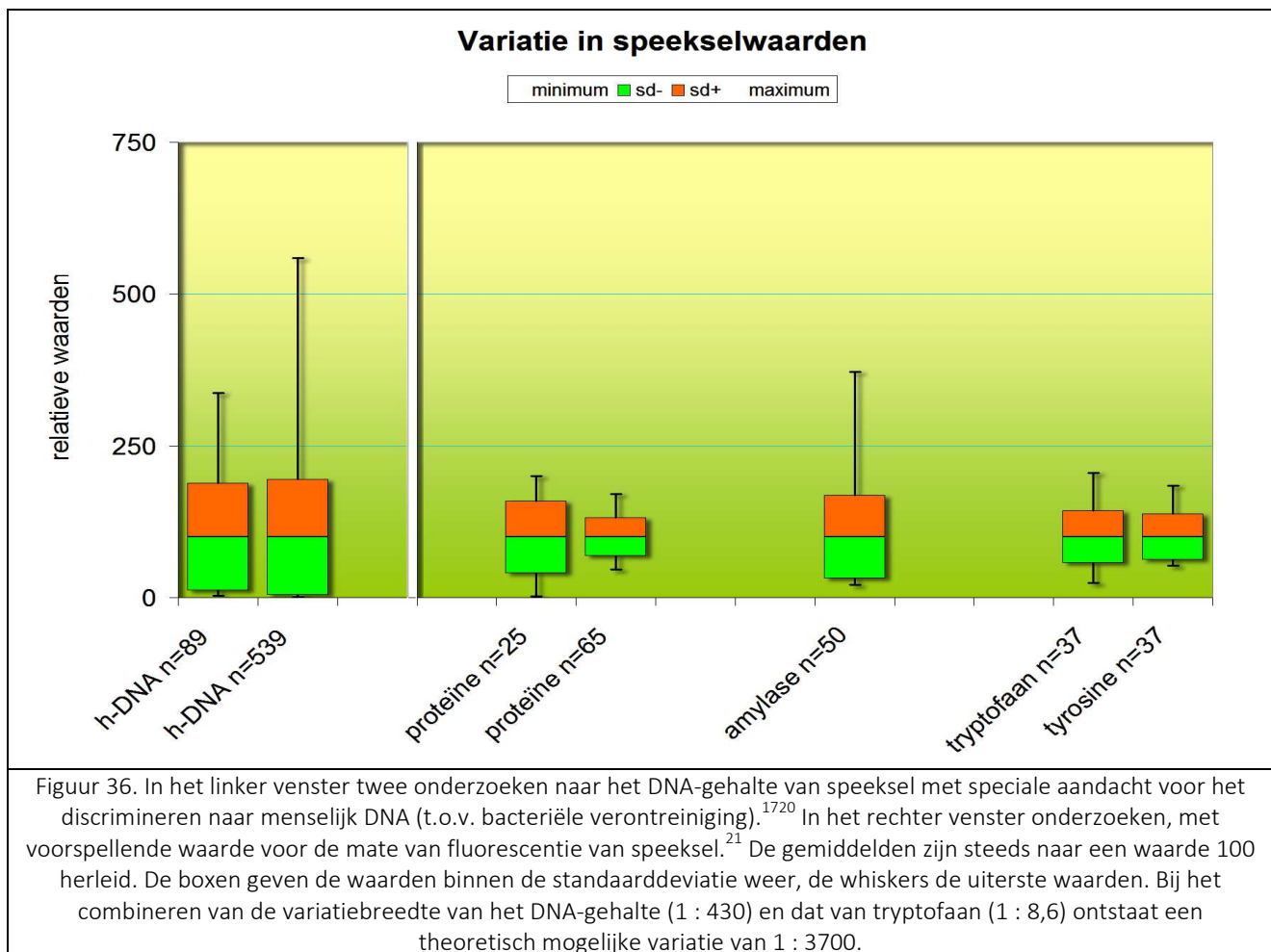
Tijdens de rechtszaak voor Den Bosch werd door ing. R. Eikelenboom betoogd, dat de lichtrode vlekken waarschijnlijk geen speeksel als bron van DNA konden bevatten, omdat de vlekken niet onder een crimescope oplichtten (mijn nadruk):

*"De locaties in de rode cirkels waren niet crimescope-positief. In deze locaties is dus niet de aanwezigheid van lichaamsvloeistoffen aangetoond. Het is dus **zeer onwaarschijnlijk** dat het hier speeksel betreft. Het kan echter ook zijn dat het om een zo kleine hoeveelheid speeksel gaat dat deze door de crimescope niet wordt gedetecteerd."*

Elders heb ik uiteengezet, dat deze redenering op fysische, chemische en biologische gronden geen hout snijdt; de in de lichtrode sporen aanwezige ijzer(III)-ionen werken het mechanisme van oplichten op allerlei manieren tegen.¹⁶

Maar er is nog iets anders aan de hand. De hoeveelheid DNA, aanwezig in speeksel is enorm variabel, rond een gemiddelde, genormaliseerd naar 100 procent, liggen de uitkomsten in onderzoeken tussen de 1,3 en 560 procent¹⁷, hier weergegeven in het linker paneel van figuur 36. Ofwel, de hoeveelheid speeksel kan héél klein zijn en toch een heel goed zichtbare DNA-uitslag veroorzaken.

Andersom zijn de hoeveelheid fluorescerende bestanddelen (tryptofaan en tyrosine) in speeksel ook zeer variabel. Voor de in dit verband belangrijkste bouwsteen (tryptofaan)¹⁶ geldt, dat bij een genormaliseerd gemiddelde van 100 procent, de hoeveelheid tryptofaan zich beweegt tussen de 24 en 206 procent¹⁸. Zeer waarschijnlijk is deze variabiliteit een direct gevolg van de variabiliteit in het proteïnegehalte (met name amylasegehalte) van speeksel, waarvoor in figuur 36 de relevante waarden zijn toegevoegd aan het rechter venster. De bijzonderheid, die zich nu voordoet, is dat een hoog DNA-gehalte kan samenvallen met een laag proteïne gehalte, omdat de bron van proteïne in speeksel een heel andere is, dan de bron van DNA. Hedman et al 2011¹⁹ komen tot de conclusie, dat er geen correlatie bestaat tussen DNA- en proteïnegehalte. M.a.w, niets pleit ertegen, dat speeksel met een maximale DNA-belasting ongezien blijft in de crimescope wegens een minimale inhoud aan fluorescerende bestanddelen.



7.4. Speekselsporen?

Als alle sporen van Louwes speekselsporen zouden zijn, had hij dan niet massief veel speeksel over het slachtoffer moeten uitstorten?

Een eenvoudig rekenvoorbeeld:

Als een gemiddeld proefpersoon telt van 1 tot 100, dan verlaat 50 mm³ speeksel zijn mond (Xie 2009)²³. Dat is dus een kwestie van twee minuten. Zo'n gemiddeld proefpersoon heeft in zijn speeksel 12,5 ng/mm³ DNA (Sun en Reichenberger 2014)²⁴. Dus in twee minuten verlaat 625 ng DNA zijn mond. Met de uitrusting, die Dr. A. D. Kloosterman op de NFI gebruikte heb je 0,2 tot 1,0 ng voor een volledig DNA-profiel nodig volgens diezelfde Dr. A.D. Kloosterman!²⁵

Dus kun je in theorie tussen de 600 en 3000 volledige profielen rondstrooien in twee minuten, gewoon door te praten.

Hieraan moet je nog de variatie (tot x 5,60) toevoegen, die in de voorafgaande paragraaf werd besproken. Intussen werd slechts een handjevol complete profielen van Louwes uit de blouse geknipt. Dus hoezo heel veel?

7.5. Spoor #20 en apoptosis

In de bespreking van spoor #20 tijdens het revisieproces van Den Bosch (2003-4) refereerde ing. R. Eikelenboom al dan niet bewust aan het verschijnsel geprogrammeerde celdood (apoptosis), zoals dat (wellicht) optreedt bij de cornificatie van de huid:

"De kans op verkrijging van een DNA-profiel speelt ook een rol. Uit bloed, sperma of speeksel wordt in het algemeen vrij eenvoudig een DNA -profiel verkregen. Bij aanrakingssporen of huidcellen is die kans erg klein. Weliswaar laat de huid continu cellen los, maar deze bevatten weinig DNA -materiaal, aangezien het om afstervende cellen gaat. Indien door de dader een behoorlijke mate van kracht is uitgeoefend, is de kans dat er uit huidcellen een DNA -profiel wordt verkregen, groter."

En:

"Huidcellen die loskomen, zijn afgestorven. Het DNA -materiaal in zo'n cel is grotendeels afgebroken. Bij het gebruik van de Low Copy Number -methode zijn maar enkele cellen nodig om een bruikbaar DNA -profiel te verkrijgen. Voor het met behulp van de standaardmethoden, die door het NFI bij het DNA -onderzoek worden gehanteerd, verkrijgen van een bruikbaar DNA-profiel van huidcellen dienen minimaal 200 cellen te zijn overgebracht. Bij zakelijk, oppervlakkig contact zoals het geven van een hand of het voeren van een gesprek op geringe afstand tussen personen wordt in het algemeen minder dan deze hoeveelheid overgedragen."

Het Hof ging hierin mee, gelezen het volgende:

"Ing. Eikelenboom heeft in dit verband in de eerste plaats onder meer opgemerkt dat de in het onderhavige onderzoek verkregen DNA-profielen zijn bepaald met de standaardmethoden die door het NFI bij het DNA-onderzoek worden gehanteerd. Bij die methoden zullen over het algemeen geen profielen worden verkregen uit celmateriaal dat kan worden overgedragen bij zakelijk, oppervlakkig contact zoals het geven van een hand of het voeren van een gesprek op geringe afstand tussen personen. Ter zitting van 26 januari 2004 heeft ing. Eikelenboom verklaard dat voor het met behulp van genoemde standaardmethoden verkrijgen van een bruikbaar DNA-profiel van huidcellen minimaal 200 cellen dienen te zijn overgebracht en dat bij het bedoelde zakelijke, oppervlakkige contact in het algemeen minder dan deze hoeveelheid zal worden overgedragen.(..)

Mogelijkerwijs gaf ing. R. Eikelenboom in zijn bespreking van het DNA-gehalte van huidcellen een verklaring voor de tienvoudige ophoging van de minimaal benodigde hoeveelheid DNA (200 i.p.v. 20 cellen), waarvan hij melding maakte. Door de DNA-deskundige van het NFI (Dr. A. Kloosterman 2000) was vastgesteld dat de optimale DNA-input voor het rond 2000 in gebruik genomen SGM-plus-systeem (afhankelijk van de kwaliteit van het DNA-monster) tussen de 0,2 en de 1,0 nanogram bedroeg, dus tussen de 30 en 150 cellen lag²⁵. Een stageverslag, gemaakt onder auspiciën van dezelfde Dr. A. Kloosterman in 2003 bij het NFI meldde een ondergrens van 100 picogram/18 cellen (Emily Besselink, UvA/NFI 2003)²⁶. Daar werd echter door geen van de betrokkenen - dus inclusief Dr. A. Kloosterman - voor het Hof melding gemaakt.

Het kan natuurlijk ook, dat ing. Eikelenboom de begrippen cel en picogram verwarde; de detecteerbaarheid van DNA via standaardprocedures werd destijds veelal rond de 100 tot 200 picogram gelegd (= rond de 20 cellen). Een door ing. Eikelenboom zelf aangedragen literatuurverwijzing meldde die getallen nadrukkelijk:

"Currently, multiplex PCR DNA type profiling routinely produces full profiles at or below 100 picograms of purified DNA. Therefore, as few as 20 cells will be sufficient to produce a DNA type profile. The skin surface represents a large potential for a source of DNA profiles." (R. A. Wickenheiser 2002).

Waarschijnlijk was deze zin door geen van de deelnemers aan het proces gelezen. Om zijn redenering kracht bij te zetten, verscheen in zijn rapport een opvallende opmerking:

Dr. A. Linacre geeft desgevraagd aan dat minimaal 200 cellen nodig zijn om met standaard methoden een DNA-profiel te verkrijgen. De overdracht van deze hoeveelheid cellen treedt volgens hem niet op bij zakelijke contacten.

In deze notitie staat een verwijzing, maar de bijbehorende tekst ontbreekt. Ik stuurde Dr. Linacre deze tekst en verkreeg het volgende antwoord (mijn nadruk):

*"On request, Dr. A Linacre states, 200 cells are **required** to obtain a DNA-profile with standard methods."[:] This is a **misunderstanding** as 200 cells was equivalent to the **optimum** amount of starting template. (...) In my opinion 190 cells should generate a full profile but 50 pg of DNA [equivalent to 8 cells – author] is highly unlikely to do so."*

Intussen was er dus een soort kruisvuur aangelegd; ofwel er was een ondergrens van 200 cellen, ofwel er was een ondergrens van 20 cellen, maar door de slechte kwaliteit van huidcellen werden dit alsnog 200 cellen. Wat de bedoeling was werd nergens (NFI-rapport, getuigenverklaringen, arrest) echt duidelijk.

7.5.1. Stand van wetenschap op moment van de verklaring.

Alle artikelen over van cornificatie (vorming huidcellen) in relatie tot geprogrammeerde celdood melden een onvolledig begrip van het mechanisme of mechanismen (cf. Eckhart et al. 2013²⁷). Dit geldt zowel voor literatuur voor, als ten tijde van de besproken uitspraken. Het geldt ook nog nu, cf. Clare Rogerson et al. 2018²⁸. De door ing. Eikelenboom opgeworpen gedachte, dat het DNA wordt afgebroken en niet meer is terug te vinden werd en wordt niet proefondervindelijk gesteund.

7.5.2. Cornificatie leidt tot het onzichtbaar worden van celkernen.

Dat is wat anders dan het verdwijnen van het DNA. DNA omvat 10% van de massa van een celkern. Celkernen zijn –onder de microscoop- zichtbare structuren, opgebouwd uit miljoenen moleculen. Individuele DNA-moleculen zijn meestal vrijwel onzichtbaar en vertonen een betrekkelijk hoge stabiliteit gezien het aantreffen van DNA in de fossielen van bijvoorbeeld neanderthalers.

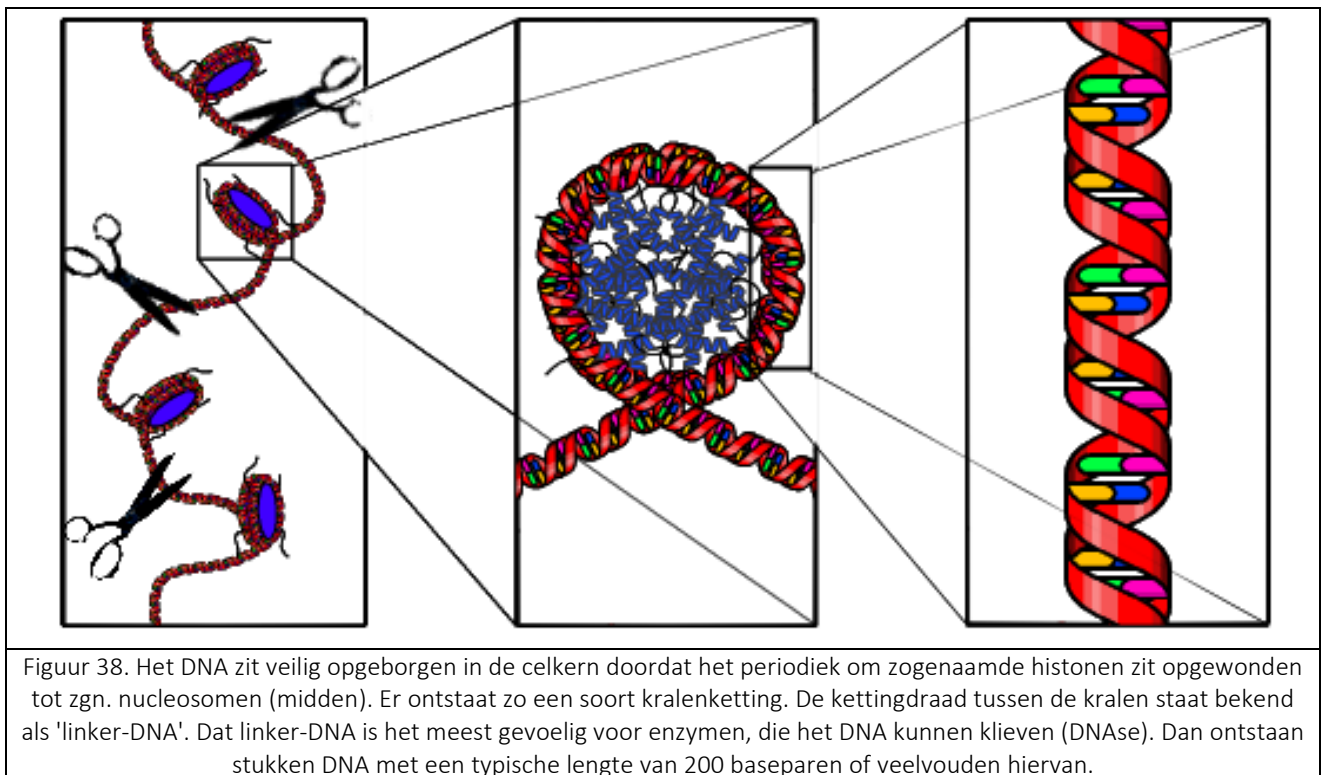
Er zijn aanwijzingen dat het DNA vrijkomt en daardoor juist gemakkelijker overdraagbaar wordt (Kita et al. 2008²⁹). Volgens het mechanisme van apoptose worden de afbraakresten opgenomen door fagocyten en blijven dan gewoon detecteerbaar (tijdens DNA-typering worden de fagocyten eenvoudig weer afgebroken en komt het DNA vrij). Of apoptose bij cornificatie een rol speelt is intussen maar de vraag: Lippens et al. 2005³⁰. Fischer et al. 2007³¹ concluderen dat in ieder geval een soortgelijk proces optreedt.

7.5.3. Het verlies van celkernen bij cornificatie treedt niet bij iedereen op.

Indien betrokkene lijdt aan parakeratose (zoals bij roos en psoriasis), blijven de celkernen typisch wél aanwezig (cf. Fischer et al. 2017¹). In combinatie met het dan veelvuldig ontstaan van huidschilfers (niet onrealistisch, Louwes is kaal), wordt DNA-overdracht alleen maar waarschijnlijker. Deze mogelijkheid werd echter geheel buiten beschouwing gelaten.

7.5.4. Geprogrammeerde celdood.

Afbraak van DNA wordt beschouwd als de onderdeel van geprogrammeerde celdood. Deze afbraak vindt – naar de huidige stand van wetenschap – niet willekeurig plaats, maar op bepaalde plaatsen in het DNA, zogenaamde restriction sites. Veelal wordt een rol toebedacht aan het enzym DNase1L2. Een gevolg daarvan zou zijn, dat bepaalde locaties van het DNA niet gevoelig zijn voor deze vorm van afbraak. Als deze specifieke vorm van DNA-afbraak optreedt, blijven brokstukken over, die typisch 180 of - vaker - veelvouden van 180 baseparen lang zijn, dus in veel gevallen gewoon geschikt zijn voor forensische DNA-analyse (die gebaseerd is op fragmenten tussen 100 en 340 baseparen lang, die ontstaan tijdens PCR). De fragmenten die hier gebruikt zijn voor de kwantitatieve analyses liggen tussen de 110 en 150 bp, dus zijn relatief ongevoelig voor fragmentatie.



Op geen enkele manier wordt waarschijnlijk gemaakt, laat staan bewezen, dat spoor #20 iets te maken heeft met DNA afkomstig uit huidcellen, of dat er abnormaal veel cellen werden overgedragen.

Tot slot een pikant en veelzeggend detail: in het NFI-rapport van 19 januari 2004 wordt tweemaal gesteld, dat spoor #20 zich op het *rechter* voorpand van de blouse bevindt. In het NFI-rapport van 22 januari 2004 wordt eerst gesteld, dat het spoor zich *rechts* op de blouse bevindt en even later, dat het zich *links* op de blouse bevindt. In het arrest van Den Bosch wordt weer gesteld, dat het spoor zich *rechts* op de blouse bevond, zij het vlak boven de bovenste steekwond. Dus?

Een andere uitglijder m.b.t. dit spoor - inmiddels wel toegegeven - staat gememoreerd in paragraaf 4.4.1.

8. DNA aan de nagels

Reeds in het 2003/4 onderzoek werden de veiliggestelde nagelknipsels onderzocht op autosomaal DNA. Er werd alleen autosomaal DNA van het slachtoffer aangetroffen. In later onderzoek (2006, dus niet van belang in het proces van Den Bosch), uitgevoerd door het FLDO (Forensisch Laboratorium voor DNA Onderzoek) werden d.m.v. Y-str onderzoek ook sporen, (deels) overeenkomend met het profiel van Louwes aangetroffen. Bij die gelegenheid werden de matchende sporen ook autosomaal onderzocht*, weer zonder enige match met Louwes. Eerst maar eens een overzicht, alle data behalve 'Y-str' betreffen dus steeds het slachtoffer:

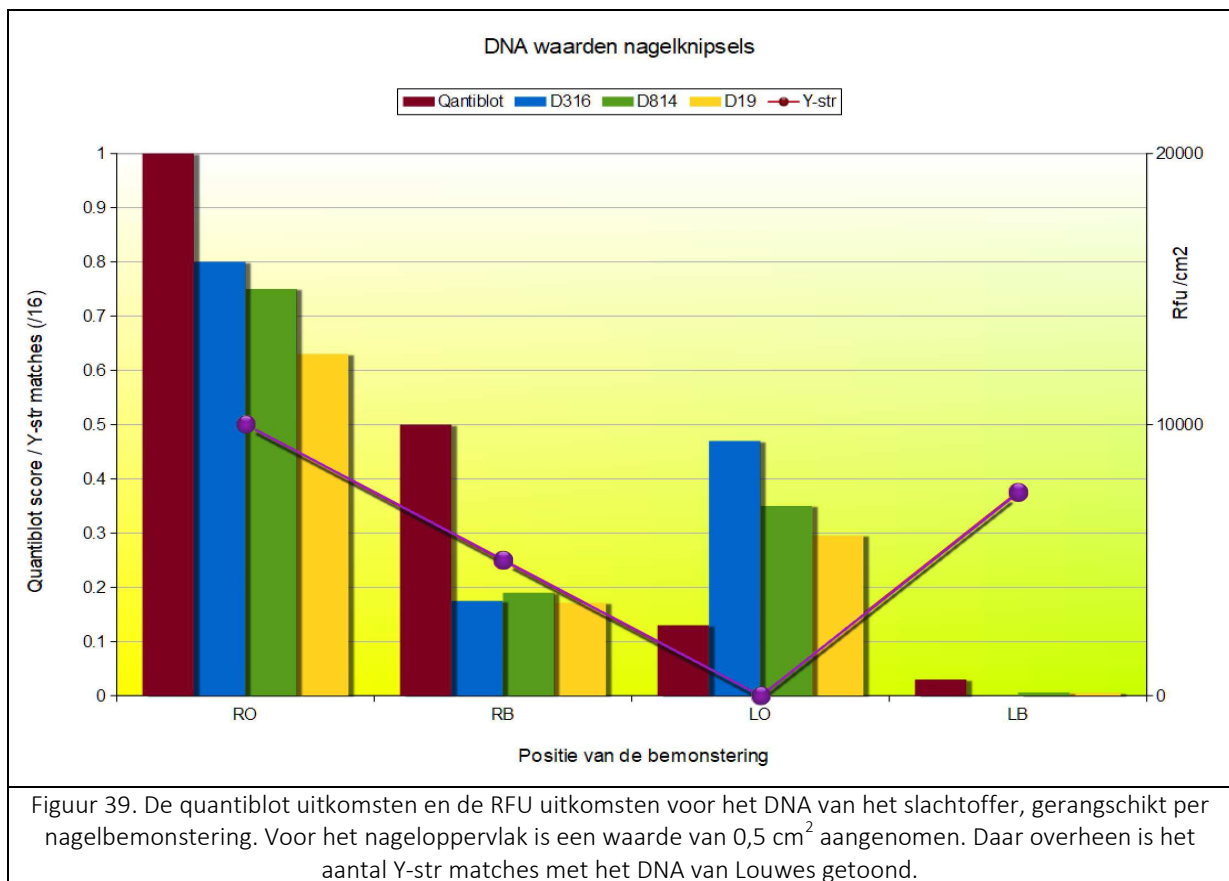
nagelsporen	positie	NFI					FLDO	
		Qantiblot	autosomaal				autosomaal	Y-str
		score	RFU			matches	matches	matches
			D316	D814	D19	(17)	(26)	(17)
								1
AFZ648#1	RO	1	8000	7500	6300	17	25	8
AFZ648#2	RB	0.5	1750	1900	1710	9	24	4
AFZ948#1	LO	0.13	4700	3500	2950	10	*	0
AFZ948#2	LB	0.03	0	60	50	1	26	6

In de tabel staan de absolute waarden voor de RFU-scores in het NFI-onderzoek. Bij een geschatte bemonsterbare oppervlakte van 0,5 cm² (vijf nagels, 1 cm breed en 1mm hoog) worden de scores voor de DNA-intensiteit van de autosomale sporen tweemaal zo hoog (figuur 39). Het aantal matchende pieken is overal vermeld, evenals de bijbehorende maxima in de kopregel (het XY-kenmerk niet meegeteld). Gele cijfers hebben betrekking op het slachtoffer, de groene op Louwes.

8.1. Het autosomale onderzoek bij het NFI

Voor het onderzoek eind 2003 in het kader van het revisieproces den Bosch, waren twee containers met nagelknipsels, steeds gevuld met vijf nagelknipsels beschikbaar. Deze werden bij het NFI apart aan de onder- en bovenzijde bemonsterd en geëxtraheerd. Details werden niet vermeld. Het lijkt logisch, dat de knipsels werden afgestreken met een wattenstaafje, waarschijnlijk werden gewoon vier wattenstaafjes benut. Anderzijds werd de Engelse term '*nail scraping*' gehanteerd, dat zou kunnen wijzen op spateltje, maar deze techniek is toch meer aangewezen bij onderzoek aan nagels, die nog op hun plaats zitten. Het is echter moeilijk in te zien, hoe je daarmee de bovenzijde van een nagelknipsel kunt bemonsteren. Mogelijk is hier sprake van een '*cock up*' nummer zoveel, om in Engelse termen te blijven. Het resultaat zal zijn geëxtraheerd en vervolgens onderworpen aan een semi-kwantitatieve analyse, wederom waarschijnlijk quantiblot. Deze leveren de geschatte DNA-concentratie (ng/μL), zie de desbetreffende kolom. De scores voor RO (rechtsonder) en RB (rechtsboven) zijn zeer hoog. Omdat de vijf nagels in dezelfde container zaten, mag worden verondersteld, dat het DNA in het containertje is verspreid, al was het maar, omdat het containertjes volgens één van PV's van kunststof was en dan mag worden verwacht, dat de verdroogde huidschilfers dan aan de wandel gaan (electrostatica). Intussen is de onderzijde van de nagels ruwer dan de bovenzijde, waardoor daar wellicht het DNA zich daar beter kan vast hechten.

* Hierdoor zijn er geen autosomale waarden voor AFZ948#1 in het FLDO-onderzoek bekend, het gevolg van een onzinnige bezuiniging.



Het onderscheid tussen RO en RB, respectievelijk LB en LO lijkt erg gezocht, gezien de bewaarwijze. In de volgende drie kolommen treffen we de kwantificeerbare RFU-scores van de autosomale DNA-profielen aan. Alle hebben ze betrekking op matches met het profiel van het slachtoffer, in LB werd het (totaal-)resultaat als een afwezig DNA-profiel bestempeld.

Er is geen enkele autosomale match met het profiel van Louwes!

Deze nadruk is nodig, omdat men zich hierin later heeft vergist.

De autosomale RFU-scores vertonen een probleem in vergelijking met de quantiblot-aflezingen; nu zijn RO en LO het hoogste en is RB onverwacht laag. De discrepantie LO vs. RB is eigenlijk onoverkomelijk. Zeker bij dergelijk hoge uitkomsten. Dit zou kunnen komen doordat er verwarring is opgetreden. Deze verwarring begint al in de verslaggeving betreffende de sporen in het NFI-rapport van 19 januari 2004 (dr. A.D. Kloosterman), pagina 5/10:

"De geknipte nagels van de rechterhand [AFZ648] en linkerhand [AFZ948] van het slachtoffer zijn onderzocht op de aanwezigheid van bloed. Op deze nagels is geen bloed aangetroffen. De nagels van het slachtoffer zijn bemonsterd ten behoeve van een DNA-onderzoek"

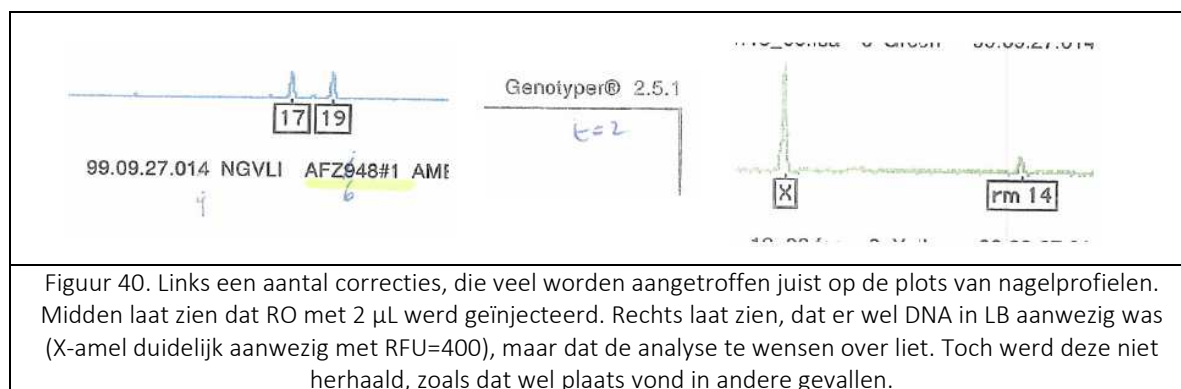
Dit klopt nog met de sporenlijst, maar dan; pagina 6/10 hierop onmiddellijk volgend:

Hierbij zijn de onderzijde van de nagels van de linker- en rechterhand ([AFZ648]#1, [AFZ948]#1) en de bovenzijde van de nagels van de linker- en rechterhand ([AFZ648]#2, [AFZ948]#2) bemonsterd.

Dit kan onschuldig lijken - je moet twee keer lezen om op te merken, dat hier iets anders staat -, maar ook in de verdere verwerking zit een probleem, in 2006 schrijft Kloosterman aan het FSS (die een second opinion zou opstellen) een brief met gegevens over de profielen:

43	AFZ648#1	Nail scraping victim #1 (right hand) (10 ul input; T=15 sec)
44	AFZ648#2	Nail scraping victim #2 (right hand) (10 ul input; T=15 sec)
45	AFZ648#1	Nail scraping victim #1 (left hand) (10 ul input; T=15 sec)
46	AFZ648#1	Nail scraping victim #2 (left hand) (10 ul input; T=15 sec)

Het is natuurlijk vervelend, dat we geen zekerheid lijken te hebben welke monsters nu welk nummer moeten hebben, maar vooral dat het NFI geen oog voor detail en zorgvuldigheid blijkt te hebben. Zo blijken de gehanteerde inputwaarden voor de elektroforese niet overeen te stemmen met de bijgeschreven gegevens op de profielen zelf (resp. 2, 8, 10, 10). Voor de verhoging van de input van PCR-product is in de quantiblot gegevens ook geen rechtvaardiging te vinden (als dit al effect zou hebben, zie 4.4.2). Mogelijk probeerde het NFI alsnog een uitkomst met DNA van Louwes te 'forceren'.



Figuur 40. Links een aantal correcties, die veel worden aangetroffen juist op de plots van nagelprofielen. Midden laat zien dat RO met 2 μ L werd geïnjecteerd. Rechts laat zien, dat er wel DNA in LB aanwezig was (X-amel duidelijk aanwezig met RFU=400), maar dat de analyse te wensen over liet. Toch werd deze niet herhaald, zoals dat wel plaats vond in andere gevallen.

Nog steeds zijn we hier niet klaar met het signaleren van afwijkingen. Ook het FLDO deed een autosomaal onderzoek naar het DNA en ook het FLDO vond slechts autosomaal DNA van het slachtoffer (2006). Alleen vond het FLDO vrijwel volledige profielen - nogmaals, van het slachtoffer - in de sporen AFZ648#1, AFZ648#2 en AFZ948#2, terwijl AFZ948#1 niet werd onderzocht(?). En dat stemt dus totaal niet overeen met de resultaten van het NFI, dat juist voor spoor AFZ948#2 een *ontbrekend* profiel meldde. Bij het FLDO was dit juist het enige *volledige* profiel in de hele reeks!

Ondanks dat was er in het onderzoek naar autosomaal DNA (2003/4) niets aan de hand voor Louwes, want nogmaals, er werd geen spoortje van zijn DNA in de monsters aangetroffen. Maar voor de rest valt er geen touw meer aan vast te knopen. Temeer, omdat het NFI in 2006 de resultaten van het FLDO mocht voorzien van commentaar en daarbij geen enkele verklaring voorstelde voor de discrepantie in de uitslagen m.b.t. de sporen ARA852#42 (par. 7.1.3) en AFZ948#2.

8.2. Het Y-chromosome onderzoek bij het FLDO

8.2.1. Nagelvuil

Louwes bleef op dit terrein buiten schot totdat het NFI in 2006 opnieuw vragen kreeg voorgelegd. Bij de beantwoording hiervan kwam A.D. Kloosterman (19 mei 2006) ongevraagd met een aanbeveling (steeds mijn nadruk):

"Van de geknipte nagels van de rechter- en linkerhand [AFZ648 en AFZ848] (hier klopt de volgorde weer - auteur) is een DNA-profiel verkregen dat gelijk is aan het DNA-profiel van het slachtoffer (zie deskundigenrapport van 19 januari 2004).

DNA-onderzoek aan nagelvuil kan een hoge criminalistische waarde hebben, als in bemonsterd nagelvuil van bijvoorbeeld een slachtoffer van een geweldsmisdrijf DNA-kenmerken van een ander individu worden aangetroffen. In zijn algemeenheid geldt dat bemonsterd nagelvuil van een slachtoffer vaak veel DNA van het slachtoffer bevat. Dit DNA kan de DNA-kenmerken van een eventueel tweede individu maskeren. In gevallen als deze, waarbij relatief veel celmateriaal van het vrouwelijke slachtoffer aanwezig is kan een eventuele aanwezigheid van mannelijk DNA in de bemonstering van het nagelvuil worden gedetecteerd met Y-chromosoom specifiek DNA-onderzoek."

U leest het goed, viermaal refereert de heer Kloosterman aan de term nagelvuil, terwijl nagelvuil in de onderhavige casus nooit werd aangetroffen; er werden nagels afgeknipt, maar dat is echt iets anders. Voorts laat het NFI onbenoemd, dat in één van de sporen (LO) geen DNA van het slachtoffer werd gedetecteerd, dus hier van maskeren a priori geen sprake kon zijn. Ook laat de deskundige hier na te vermelden, dat het gevraagde Y-chromosoom onderzoek veel gevoeliger is dan autosomaal onderzoek en daardoor geen duidelijk onderscheid meer kan worden gemaakt tussen geweldssporen en contactsporen, een onderscheid, waarop het NFI nu juist was aangesproken.

Toch werd het advies van het NFI opgevolgd, en - u raadt het al - werd het resultaat misbruikt. Het FLDO kreeg de opdracht toegespeeld. Het resultaat is opgenomen in de tabel waarmee dit hoofdstuk begon; er werden partiële profielen verkregen met 0 - 8 matches, dus 8 - 16 **ontbrekende** signalen op een maximum van 16 (17 in sommige tellingen).

De Advocaat Generaal in de inmiddels gestarte herzieningsprocedure ging met het resultaat aan de haal:

"1.22. Naar aanleiding van bijlage 50 heb ik bij het Openbaar Ministerie het betreffende FLDO-rapport d.d. 11 september 2006 van Dr. P. de Knijff opgevraagd. Uit dat rapport blijkt dat in vier van de door het FLDO ontvangen sporen een Y-chromosoom DNA-profiel kon worden waargenomen. In de overige bloedsporen is geen Y-chromosoom DNA-profiel waargenomen. Het betreft het bloedvlekje #42, twee monsters uit materiaal dat is aangetroffen aan de onder- en bovenkant van de nagels van de linkerhand van het slachtoffer en een monster uit materiaal dat is afgenomen aan de bovenkant van de nagels van de rechterhand van het slachtoffer. (...) Ten aanzien van de drie nagelvuilsporen concludeert De Knijff op basis van Y-chromosomaal DNA-onderzoek dat het profiel overeenkomt met dat van aanvrager. "

Let wel: één van deze sporen bevatte slechts een kwart van de mogelijke pieken, het 'sterkste' spoor slechts de helft. Wat De Knijff hier gesteld heeft, is dat de aangetroffen pieken overeenstemmen met het profiel van Louwes. Dat is net iets anders.

In het vervolg blijkt nu, dat de giftige uitdrukking 'nagelvuil' zich als een virus door de populatie van juristen en onderzoekers heeft verbreid, lees De Knijff op 4 oktober 2006 (met mijn nadruk):

"Uit het feit dat de Y-chromosoom profielen in het nagelvuil overeenkomen met het Y-chromosoom profiel in ARA852#42 mag niet zonder meer de conclusie worden getrokken dat het mannelijk celmateriaal in het nagelvuil dus ook van dezelfde man

afkomstig moet zijn. Er zijn ten aanzien van de nagelvuil extracten tenminste twee mogelijke verklaringen (scenario's):

A) Het mannelijk celmateriaal in het nagelvuil is afkomstig van verdachte.

B) Het mannelijk celmateriaal in het nagelvuil is afkomstig van een andere man welke bij toeval hetzelfde Y-chromosoom profiel heeft als de verdachte."

Misschien nog maar eens herhalen:

Er was geen nagelvuil!

De schade, die in 2006 ontstaan was, duurt tot op de dag van vandaag voort; eerst in het advies van de ACAS d.d. 21 januari 2014:

"Volledigheidshalve wijst de Commissie er op dat in de rapportage van 19 mei 2006 het NFI adviseert, het nagelvuil van de geknipte nagels van het slachtoffer Y-chromosomaal op DNA te laten onderzoeken. Het resultaat hiervan staat in het hierna te bespreken FLDO rapport N06-102 van 11 september 2006."

Waarna de Advocaat Generaal die zich in de lopende procedure bezig houdt met de Deventer Moordzaak, meester D.J.C. Aben wist te melden:

*"De ACAS vraagt bovendien nadrukkelijk aandacht voor een ander onderzoeksthema, namelijk de aanwezigheid van enig celmateriaal in materiaal dat aan of onder de nagels van het slachtoffer is aangetroffen en waarvan **autosomale** DNA-kenmerken en Y-chromosomale DNA-kenmerken overeenkomen met die van [veroordeelde]."*

Hierin is de uitdrukking nagelvuil eufemistisch vervangen door de term 'celmateriaal'.

Ik moet nu de volgende waarschuwing lanceren:

Er is geen celmateriaal verzameld!

en een andere waarschuwing herhalen:

Er is geen enkele autosomale match met het profiel van Louwes!

8.2.2. Celmateriaal

Het moment om de term celmateriaal aan de orde te stellen. Cellen kun je zien, kijk maar naar uw hand of op uw neus. Maar losse cellen zien wordt natuurlijk wel wat moeilijker, daar is een microscoop voor nodig. Forensische onderzoekers kunnen langs die weg celmateriaal verzamelen, bijvoorbeeld onder de nagels van het slachtoffer vandaan. Dat proces heeft in de Deventer Moordzaak - u raadt het al - niet plaats gevonden. Wel zijn de nagels van het slachtoffer bewaard en in een ongecontroleerde - want niet beschreven - procedure bemonsterd. We gaan dus uit van het afstrijken met een wattenstaafje.

Het resultaat is geanalyseerd via PCR en vervolgens zijn diverse DNA-sporen aangetroffen. Zat dat DNA in celmateriaal? Daar weten we niets van. En dat kan achteraf ook helemaal niet worden vastgesteld. Bestaat er dan DNA buiten de cel? Jazeker. Dat bestaat. Er bestaan zelfs tags voor: CNA en fcDNA (free circulating DNA). Ik verwees hierboven al naar Kita et al. 2008²⁹. Intussen bestaat er een enorme

hoeveelheid aan informatie over het voorkomen van dit CNA, allemaal al beschikbaar voordat de Aben de term celmateriaal invoerde, cf. Suzanna Ryan 2012³² en Vandewoestyne 2013³³. Ondermeer komt hierin naar voren, dat de gebruikte extractiewijze, QIAamp redelijk efficiënt is in het bemonsteren van deze vorm van DNA.

8.2.3. Kwantitatief

Zoals al gememoreerd, waren de gevonden Y-str-profielen zeer incompleet, namelijk met 8 - 4 - 6 - 0 van de 16 mogelijke pieken. Wat is de betekenis hiervan?

Geen van de openbare bronnen heeft zich uitgelaten over de technische details van het uitgevoerde onderzoek. Omdat ten tijde van het onderzoek - voor zover valt na te gaan - alleen de AmpFISTR Yfiler kit in verband kan worden gebracht met het aantal van 16/17 loci, zijn hier de gevoeligheidstesten voor deze kit onderzocht via Johns et al. 2006³⁴, Joachimsson 2007³⁵, en Maintz-Press et al. 2007³⁶.

bron	geen profiel	partieel profiel	(vrijwel) volledig profiel
		pg DNA	
Johns et al.		62,5	125
Joachimsson			62,5
Maintz-Press et al.	10	40	45

Alle onderzoeken zijn het erover eens dat 30 cycles tot een optimaal resultaat leiden. Het resultaat in de DMZ (max. 50% van volledige profielen) zit diep in de zone met onvolledige profielen tot totale black-out, waardoor we mogen concluderen, dat de hoeveelheid beschikbaar DNA van Louwes in deze onderzoeken heeft gevarieerd tussen 0 en 40 pg, ofwel tussen de 0 en 7 losse moleculen van het Y chromosoom. Voor de vier genomen monsters in totaal dus ca. 20 moleculen. Nog even ter herinnering, in 10 minuten verspreidt een gemiddeld sprekende proefpersoon ruim 3000 ng DNA, dus ongeveer een half miljoen DNA-moleculen in zijn omgeving (paragraaf 7.4).

8.3. Bron?

Toch, hoe kwam dat DNA nu juist daar? Deze vraag vraagt om twee antwoorden, namelijk, hoe kwam het DNA van het slachtoffer daar en hoe kwam het DNA van Louwes daar.



Figuur 41. Vlnr de wurgstriem van voren, van rechts, de rechter hand op de pd en op de sectietafel.

8.3.1. De autosomale profielen

Elders heb ik de bewijzen overlegd, dat mevrouw Wittenberg werd gewurgd en daarbij is overleden. Daarna is 'gesold' met het stoffelijk overschot, zowel door de dader(s) als door de rechercheurs.

Van de verwurging is een redelijk beeld te verkrijgen, door de sectiefoto's en de foto's van de plaats delict te bestuderen. Niet prettig, maar wel noodzakelijk.

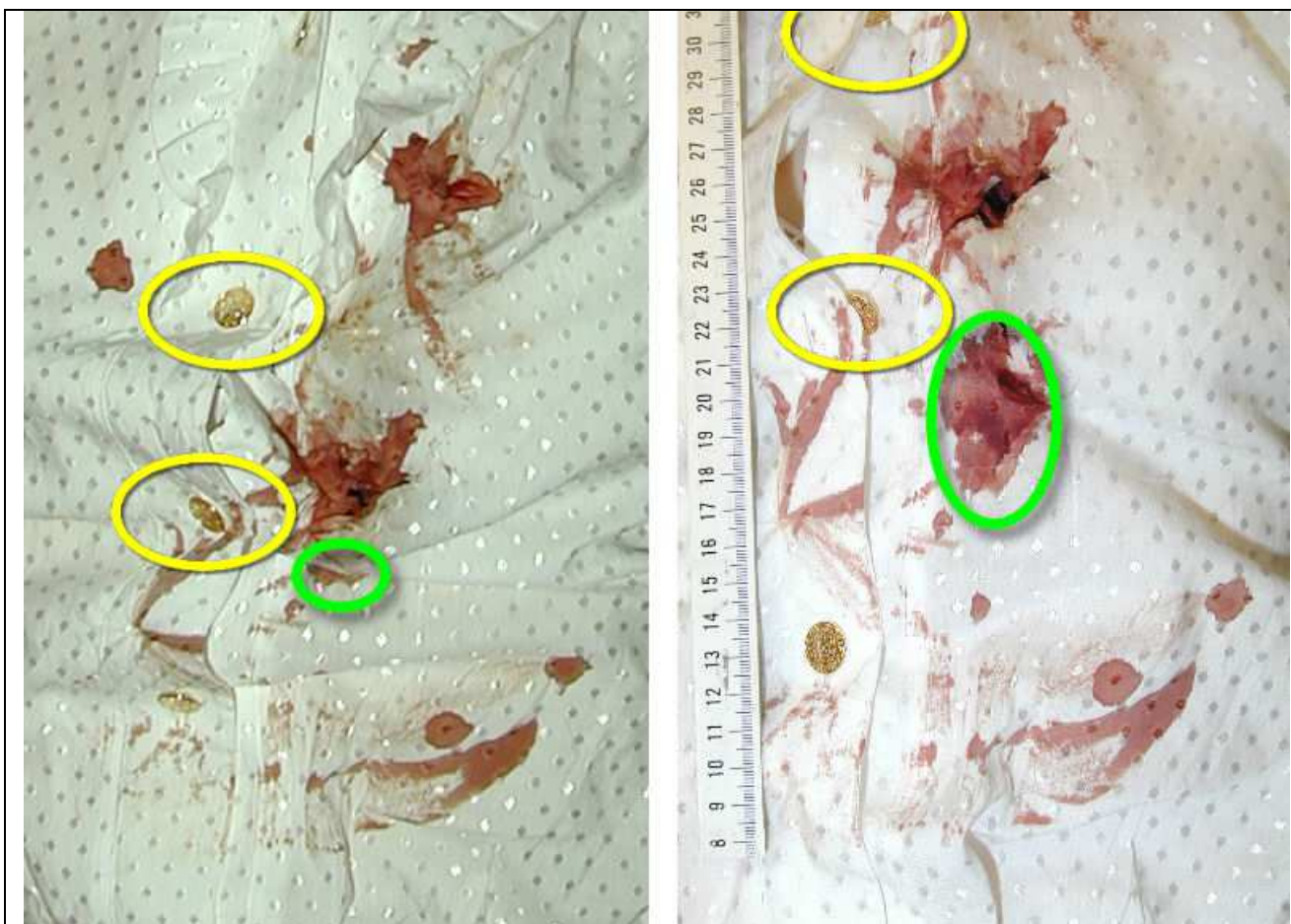
Goed is zichtbaar, dat de wurgstriem aan de rechterzijde van de hals afwezig is. De oorzaak moet gezocht worden in een defensieve actie van het slachtoffer. Door deze defensieve actie is de rechter hand diagonaal gestriemd en ingesnoerd (vooral de wijs- en middelvinger). De effecten zijn ook in de hals zichtbaar, het slachtoffer heeft zichzelf gekrabd. Daardoor zijn de DNA-hoeveelheden op de rechter nagels veel groter dan op de linker set (volgens de pre-PCR-meting althans). Na de PCR is de volgorde RB - LO gewijzigd. Dat wijst op een verwisseling (zie par. 8.1 figuur 39), als begrijpelijk gevolg van de rammelende verslaglegging. Voorts is het verschil tussen LO, een mega sterk profiel, en LB, een vrijwel ontbrekend profiel, onbegrijpelijk. Vooral, omdat dit bij het FLDO precies omgekeerd uitpakte.

8.3.2. De Y-chromosomale profielen

Uit de reconstructie hierboven volgt, dat het slachtoffer zich alleen nog met haar linker hand teweer kon stellen tegen de aanvaller. Als ze hier succesvol in was geweest, zouden huidcellen van de aanvaller zich vooral onder de linker nagels bevinden en zichtbaar zijn geworden in de autosomale profielen. Maar, zoals in par. 7.2 is betoogd, was de aanvaller vermoedelijk goed beschermd tegen DNA-overdracht.

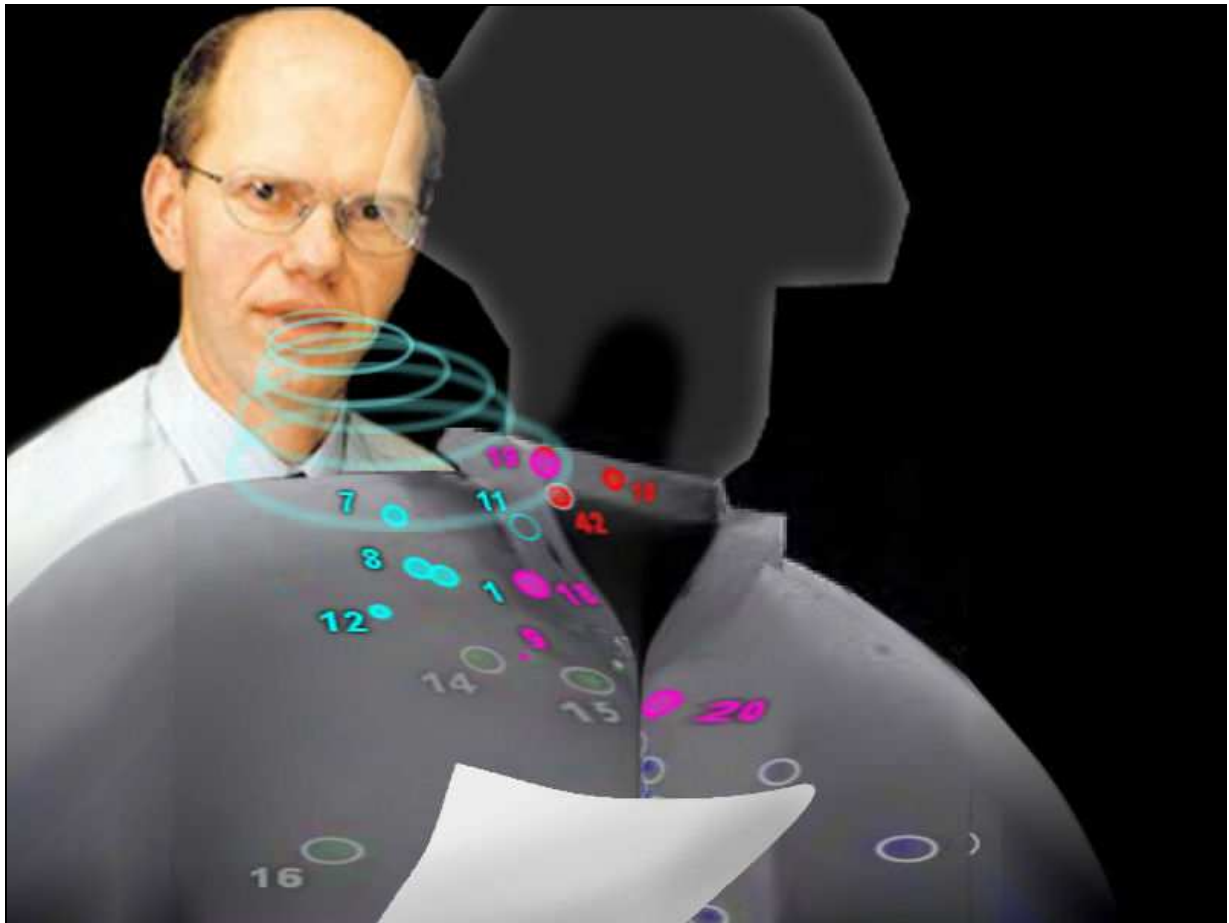
In figuur 20 is getoond, dat tussen de vondst op de plaats delict en de foto op de sectietafel, de conditie van de blouse sterk is verslechterd. Er zijn bloedvlekken bijgekomen op delen van de blouse, die helemaal geen contact hadden met wonden op het lichaam, en ook veel vouwen, alsof de blouse werd afgenomen en zo goed mogelijk weer werd aangetrokken. De knopen van de blouse waren alle tussen vondst van het slachtoffer en aflevering bij de patholoog-anatoom losgeknoopt (sectieverslag). Op de foto's, die 's avonds in het moratorium zijn gemaakt, zien we dat proces al beginnen. Het vest zit later anders over de blouse dan daarvoor. Mogelijk werd de blouse in eerste instantie het slachtoffer aangetrokken door de dader(s). In ieder geval werd de blouse weer uitgetrokken voor de sectie. Vooral de laatste handelingen moeten lastig geweest zijn, aangezien er rigor mortis zal zijn ontstaan, waardoor de handen door de mouwen moeten zijn gewrongen, te beginnen of te eindigen bij de schouders van de blouse.

Het verweer van Louwes stelt, dat hij in de ochtend van 23 september mevrouw Wittenberg bezocht en van haar een document ter bewaring in ontvangst nam. Daar zal - gezien de inhoud van het document- zeker een gedachtewisseling aan vooraf gegaan zijn. Daarmee in overeenstemming bevinden de DNA-sporen van Louwes zich vooral op de rechter schouder. Figuur 34 laat zien, dat het verloop in sterkte van het DNA-patroon hier mee overeenstemt. Zelfs het afwijkende spoor #20 (in figuur 43 links op de blouse) bevond zich in de rapportage van Kloosterman (NFI) op de rechter zijde.



Figuur 42. Links de blouse in de middag van 25 september 1999. Rechts in de avond in het moratorium. Een nieuwe vlek is zichtbaar geworden en twee knopen zijn al losgemaakt.

In ieder geval volgt uit figuur 43 zonneklaar, dat bij het maken van contact tussen de handen van het slachtoffer en de blouse er meer DNA van Louwes werd overgedragen op de rechter hand, dan op de linker hand, precies zoals figuur 39 en de bijbehorende tabel laten zien. Zoals eerder voorgerekend, zaten op de blouse potentieel honderdduizenden DNA-moleculen te wachten om op de nagels van het slachtoffer mee te liften. Er waren hiervan maar enkele tientallen van nodig om de vermelde resultaten op te leveren. Vermoedelijk gingen er zelfs een paar van nagel tot nagel, doordat waarschijnlijk steeds dezelfde schaar werd gebruikt. En anders wel tijdens het bewaren. Hoe dat afknippen is verlopen is volstrekt onduidelijk, omdat er twee verschillende PV's zijn gemaakt, die allebei een ander tijdstip van deze operatie beschrijven maar die allebei overeenstemmen in een totaal gebrek aan details.



Figuur 43. Het verweer van de heer Louwes betreft DNA-overdracht via speeksel op de rechter schouder wegens het meelesen van de 'grafbrief'.

Literatuur en verwijzingen

- Michael C Bredmore 2009. Electrokinetic and hydrodynamic injection: Making the right choice for capillary electrophoresis. *Bioanalysis* 1(5):889-94 · August 2009
- Olga Bilenko et al. 2003. Formation of a resistive region at the anode end in DNA capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 2003, 24, 1176–1183
- Peter M. Schneider et al. STR analysis of artificially degraded DNA—results of a collaborative European exercise. *Forensic Science International* 139 (2004) 123–134
- QIAamp DNA Mini Kit and QIAamp DNA Blood Mini Kit 09/2001 pag. 15, 29, 32, 45 & 46.
- J. M. Butler et al. Forensic DNA typing by capillary electrophoresis using the ABI Prism 310 and 3100 genetic analyzers for STR analysis. *Electrophoresis* 2004, 25, 1397–1412 AA
- Butler and McCord (2004). NEAFS CE-DNA Workshop Sept 29-30, 2004
- Applied Biosystems 2012. AmpF ℓ STR SGM Plus Amplification Kit. User Guide
- L. Buscemi et al. See all. Further study on suitability of Profiler Plus in personal identification. *International Congress Series* 1239 (2003) 891 –894
- Collins et al. Developmental Validation of a Single-Tube Amplification of the 13 CODIS STR Loci, D2S1338, D19S433, and Amelogenin: The AmpF ℓ STR® Identifier® PCR Amplification Kit. *J Forensic Sci*, Nov. 2004, Vol. 49, No. 6
- Butler and McCord. AAFS Workshop February 2006
- Bregu et al. Analytical Thresholds and Sensitivity: Establishing RFU Thresholds for Forensic DNA Analysis. *J Forensic Sci*, Nov. 2012, Vol. 58, No.1
- Ingeval van D19, ligt de piek in een stutterpositie en is de waarde van de piek verminderd met de verwachte stutterwaarde.
- A. Bruil et al. 1995. The Mechanisms of Leukocyte Removal by Filtration. *Transfusion Medicine Reviews*, Vol IX, No 2 (April), 1995: pp 145-166.
- NFI rapport in het kader van het oriënterend onderzoek d.d. 11 mei 2006.
- De invloed van ijzerverbindingen op fotoluminescentie is uitgewerkt in 'productie 06 - fotoluminescentieverlies.pdf'.
- Denise M Nishita et a. 2009. Clinical trial participant characteristics and saliva and DNA metrics. *BMC Medical Research Methodology* 2009, 9:71.
- Hawkins et al. 1963. Determination Of Uric Acid, Tyrosine, Tryptophan, And Protein In Whole Human Parotid Saliva By Ultraviolet Absorption Spectrophotometry. *J Dent Res* 42 :1015-1022.
- Hedman et al. 2011. Evaluation of amylase testing as a tool for saliva screening of crime scene trace swabs. *Forensic Science International: Genetics* 5 (2011) 194–198.
- Tove Rylander-Rudqvist et al. 2006. Quality and quantity of saliva DNA obtained from the self-administrated oragene method- a pilot study on the cohort of Swedish men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 15 (9): 1742–5. Sep 2006.
- Basavaraj et al. 2013.: Quantitative estimation of saliva in diabetic smokers and non-smokers. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* 4(2): 341-345.
- Dinnella et al. 2009. Saliva Characteristics and Individual Sensitivity to Phenolic Astringent Stimuli. *Chem. Senses* 34: 295–304.
- Kipps, AE & Whitehead, PH. 1975. The Significance of Amylase in Forensic Investigations of Body Fluids. *Forensic Science* 6: 137-144.
- Cianga, CM et al. 2016. Saliva leukocytes rather than saliva epithelial cells represent the main source of DNA. *Revista Romana de Medicina de Laborator* 24(1): 31-42
- Xiaojian Xie 2009. Exhaled droplets due to talking and coughing. *J. R. Soc. Interface* (2009) 6, 703–714.
- Fanyue Sun, Ernst J Reichenberger. Saliva as a Source of Genomic DNA for Genetic Studies: Review of Current Methods and Applications. *OHDM - Vol. 13 - No. 2 - June, 2014.*

25 Kloosterman. DNA als gerechtelijk bewijsmateriaal. NFI. 2002.
 26 E. Besselink. Current and Future Developments in Forensic DNA Typing. Scriptie UVA/NFI. 2003.
 27 Leopold Eckhart et al. Cell death by cornification. Biochimica et Biophysica Acta 1833.
 28 Clare Rogerson et al. Uncovering mechanisms of nuclear degradation in keratinocytes: A paradigm
 for nuclear degradation in other tissues. NUCLEUS 9-1. 2018.
 29 Kita et al. Morphological study of fragmented DNA on touched objects. Forensic Science
 International: Genetics 3-1. 2008.
 30 Lippens et al. Death penalty for keratinocytes: apoptosis versus cornification. Cell Death and
 Differentiation 12. 2005.
 31 Fischer et al. DNase1L2 Degrades Nuclear DNA during Corneocyte Formation. Journal of
 Investigative Dermatology 127. 2007.
 32 Suzanna Ryan. Touch DNA. What is it? Where is it? How much can be found? And, how can it impact
 my case? (January 2012).
http://www.ryanforensicdna.com/yahoo_site_admin/assets/docs/Touch_DNA_article.59101908.pdf
 33 Vandewoestyne et al. Presence and Potential of Cell Free DNA in Different Types of Forensic
 Samples. Forensic Science International-genetics 7 (2): 316–320. 2013.
 34 Johns et al. Study to compare three commercial Y-STR testing kits. International Congress Series
 1288 (2006).
 35 Joachimsson. Validation of AmpFℓSTR® Yfiler™ and evaluation of the use of YSTR analysis in forensic
 casework in Europe. Uppsala University School of Engineering. 2007.
 36 Maintz-Press et al. Performance Characteristics of Commercial Y-STR Multiplex Systems. J Forensic
 Sci, September 2007, Vol. 52, No. 5.