

ANÁLISIS DE ADN A PARTIR DE MUESTRAS PROVENIENTES DE RESTOS SUBUNGUEALES DE CAUSAS CRIMINALES: ¿SIEMPRE ES NECESARIO?

Bozzo, W.R.; Colussi, A.G.; Ortíz, M.I.; Laborde, L.; Pilili, J.P.; Sánchez, J.M.; Pérez Balbi, V.; Lojo, M.M.

Sección Análisis Comparativo de ADN. Asesoría Pericial Departamental La Plata. Dirección General de Asesorías Periciales. Suprema Corte de Justicia de la Provincia de Buenos Aires.

RESUMEN

La detección de un perfil genético extraño en material subungueal puede resultar importante en la investigación de ciertos hechos criminales. Este rastro puede evidenciar la transferencia de material genético de la víctima al agresor o viceversa.

Se analizaron los resultados del análisis de ADN en 283 muestras de material subungueal, ingresadas en un total de 134 pericias. Las muestras ingresaron bajo tres formas diferentes: uñas obtenidas por arrancamiento, recortes e hisopados subungueales. En el 75,2% de los casos las muestras fueron tomadas durante la operación de autopsia en causas caratuladas como Homicidio. El 40% de las pericias solicitadas correspondieron al Departamento Judicial Lomas de Zamora.

En el 66,4% del total de muestras analizadas se logró obtener perfil genético y la mayor efectividad se obtuvo en las muestras levantadas con hisopado. Los perfiles recuperados fueron compatibles con el del donante y sólo en el 8,8% de los casos se detectó material de otro individuo (ADN extraño), dando lugar a la obtención de un perfil mezcla.

Dado el bajo porcentaje de detección de perfiles diferentes al del donante, el análisis de ADN de material subungueal debería sólo ser solicitado cuando exista alta evidencia de contacto físico entre la víctima y el agresor.

INTRODUCCIÓN

Durante el trascurso de un hecho criminal, acciones de agresión y/o de defensa entre la víctima y el agresor pueden conducir a la transferencia de material biológico entre ambos individuos.

Entre otras zonas del cuerpo, el área ubicada debajo del borde libre de las uñas (hiponiquio) es un lugar “aislado” donde material biológico y no biológico (material subungueal) puede ser acumulado (1-2). Diferentes actividades subconscientes tales como el toque o rascado de diferentes partes del cuerpo pueden contribuir significativamente a la concentración de células del propio individuo debajo de sus uñas, aunque hay posibilidad de que material de otro individuo (ADN extraño) pueda acumularse en dicha región como resultado de una transferencia de material biológico. Un perfil genético con evidencia de mezcla es detectado generalmente en estos casos, esto es, el obtenido a partir de la contribución de material genético de dos o más individuos.

Si bien la detección de ADN extraño debajo de las uñas puede resultar importante para la investigación criminal, en algunas ocasiones, los resultados obtenidos deberían considerarse con cautela.

Estudios previos estimaron la incidencia de ADN extraño en material subungueal variando del 6% al 64% (2-8). Esta gran amplitud en los valores observados podría deberse a los diferentes tipos de poblaciones que fueron analizadas, desde población general hasta víctimas de homicidio seleccionadas.

En este trabajo se analizan los resultados obtenidos del análisis de muestras subungueales que ingresaron a nuestro Laboratorio durante los últimos 18 meses, provenientes en su mayoría víctimas de homicidio.

MATERIALES Y METODOS

Muestras analizadas:

Se analizaron los resultados del análisis de ADN de 283 muestras de material subungueal que fueron ingresadas en un total de 134 pericias provenientes de 15 departamentos judiciales. Las muestras ingresaron bajo tres formas diferentes: uñas obtenidas por arrancamiento, recortes e hisopados subungueales, generalmente identificadas como provenientes de mano derecha y mano

izquierda. En el 75,2% de los casos las muestras fueron tomadas durante la operación de autopsia en causas caratuladas como homicidio. En la mayoría de los peritajes se dispuso de muestra de referencia (víctima y/o imputado) a fin de cotejar con el perfil recuperado del material subungueal.

Extracción de ADN:

El ADN de las muestras de referencia se extrajo según protocolo para Chelex 100 (Biorad). La extracción de ADN a partir del material subungueal se realizó con DNA IQ™ System (Promega) o QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), siguiendo los protocolos estándar de nuestro Manual de Laboratorio (9).

Cuantificación del ADN obtenido:

La cuantificación del ADN recuperado a partir de los rastros biológicos se realizó por el método de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, en un termociclador Bioer Technology Co. (Line-Gen K), siguiendo el protocolo sugerido por Walker y colaboradores (10). Como paso previo a la amplificación, las concentraciones se ajustaron de acuerdo a la concentración de ADN recuperada a partir de las muestras procesadas, siendo descartadas para el análisis aquellas muestras en las que las concentraciones de ADN mostraron valores por debajo del límite de detección.

Obtención del perfil genético:

Las muestras de ADN se amplificaron por PCR (Polimerase Chain Reaction) mediante el uso de kits comerciales para marcadores autosómicos AmpFlSTR® Identifiler Plus (Applied Biosystems) o PowerPlex 16 HS (Promega Corporation), que permiten obtener un perfil genético de 15 marcadores de tipo microsatélites. Para el análisis del cromosoma Y se utilizó el kit AmpFlSTR® Yfiler (Applied Biosystems). Las variantes obtenidas fueron detectadas por electroforesis capilar en el equipo 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems / HITACHI), y analizadas mediante el software GeneMapper Version 3.2 (11).

Análisis y valoración de los resultados observados:

Los perfiles genéticos obtenidos a partir de las muestras subungueales se analizaron comparando los mismos con el/los perfiles genéticos de las muestras indubitadas o de referencia (imputado o víctima según lo requerido en el punto de pericia).

En aquellos casos en que un perfil genético recuperado de una muestra dubitada coincidió con el perfil de referencia, se realizó la ponderación del valor de los resultados obtenidos como prueba de identificación, mediante el cálculo de la razón de verosimilitud (LR) (12-13). Para ello la

probabilidad de los resultados observados se analizó bajo dos hipótesis alternativas y mutuamente excluyentes:

Hipótesis 1: El perfil genético detectado en la muestra subungueal corresponde a material genético del individuo donante de la muestra de referencia.

Hipótesis 2: El perfil genético detectado corresponde a material genético de otro individuo tomado al azar de la población de referencia.

El LR se define como el cociente entre la probabilidad de los resultados obtenidos dada la hipótesis 1 sobre la probabilidad de los resultados obtenidos dada la hipótesis 2. Para realizar estos cálculos se utilizó el software BDGen (14) y/o Genética Forense v2.55 (15). Para el cálculo de la probabilidad de los resultados bajo la hipótesis 2 (individuo al azar de la población general), se utilizaron tablas de frecuencias alélicas propias para población de la Provincia de Buenos Aires (16).

RESULTADOS

El 40% de las solicitudes de pericia correspondieron al Departamento Judicial Lomas de Zamora, seguido por Mercedes y La Plata (9% y 8,3% respectivamente). Esta mayor proporción, puede deberse a la inclusión en los protocolos de autopsias de la toma de muestra subungueal y su posterior remisión para análisis de ADN.

En la fig.1 se observa la distribución del número de muestras según la carátula, correspondiendo el 75.3% a causas generadas por homicidios.

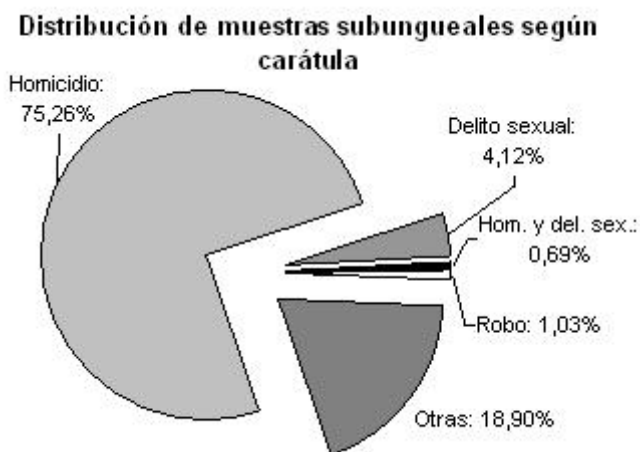


Fig. 1

Respecto del tipo de muestras remitidas, el 46.2% fueron uñas cortadas, seguidas por las obtenidas por arrancamiento (33.2%), y en menor proporción hisopados de las mismas (20.6%) (fig. 2).

Tipos de muestras subungueales remitidas

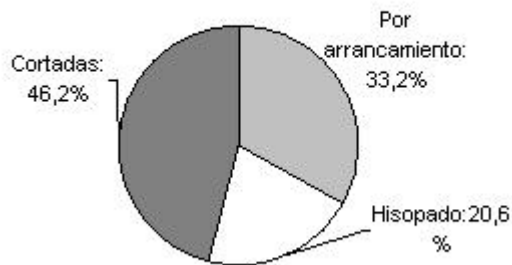


Fig. 2

En el 66.5% de las muestras se obtuvo un perfil genético apto para cotejo, la mayoría de los cuales fueron completos (94%), esto es, se recuperó información genética para los 15 marcadores genéticos analizados. En el resto no se obtuvo perfil.

Sólo en 17 muestras (8,8%) se detectó ADN extraño (fig. 3). En todos los casos, el mismo se encontraba formando parte de un perfil mezcla constituido por la contribución de material genético de al menos dos individuos. El 70.6% correspondió a causas con carátula de homicidio.

Calificación de los perfiles detectados

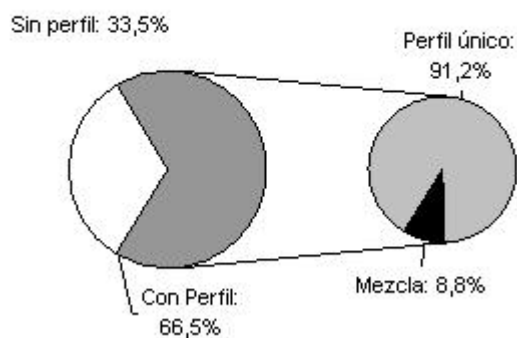


Fig. 3

Cada perfil obtenido de una muestra subungueal fue cotejado con el obtenido de la muestra de referencia correspondiente. En el caso de los perfiles únicos, ninguno correspondió a material genético extraño. De los perfiles mezclas recuperados, en 12 de ellos no pudo excluirse a la víctima y a otro individuo desconocido como posibles donantes contribuyentes del material genético mezcla detectado, mientras que en los otros 5, no pudo excluirse a la víctima y al

imputado. En todos los casos, los valores de la Razón de Verosimilitud o LR estimados fueron mayores de 10^{10} .

Respecto del tipo de muestra analizada, en las tomadas por hisopado se recuperó el mayor porcentaje de perfiles genéticos (76,3%), lo cual indicaría que esta metodología debería ser el utilizado preferentemente para la recolección de las muestras. Sin embargo, en estos se obtuvo la menor proporción de perfiles mezclas (figs. 4-a, 4-b y 4-c).

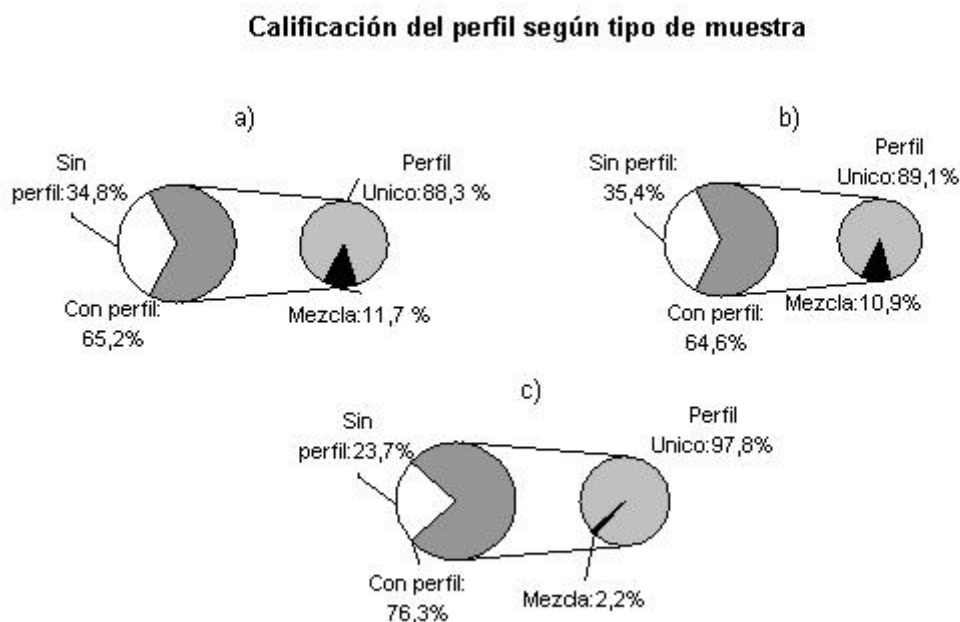


Fig. 4. a) por arrancamiento, b) cortadas y c) hisopados.

DISCUSION

Varios autores han estudiado la prevalencia de material genético extraño en material subungueal, sin embargo los resultados obtenidos difieren en razón del tipo de la población analizada. Así, por ejemplo, A. Piccinini y col. (2) detectaron una alta proporción de ADN extraño (35%) en material subungueal proveniente de 31 víctimas de homicidio donde se sospechaba contacto físico entre víctima y agresor. Lai y col. (8) determinaron que el 14% de las muestras subungueales por ellos analizadas contenían ADN extraño. Mas recientemente, Matte y col. (7) encontraron un 33% de perfiles mezclas en muestras subungueales provenientes de casos donde contacto físico entre la víctima y el agresor había ocurrido o era una posibilidad.

Por otra parte, varios estudios han estudiado la prevalencia de ADN extraño en muestras tomadas de la población general. Así, Cook y Dixon (4) detectaron un 6% de perfiles mezclas informativos en una población de 100 donantes que variaron en edad y ocupación. Por otro lado, Malsom y col. (6) recuperaron perfiles mezclas en un 17% de las muestras subungueales obtenidas de 12 parejas estables que tuvieron relaciones íntimas durante el día anterior. En el mismo estudio, el análisis mediante marcadores del cromosoma Y en las muestras con perfil femenino, detectó ADN masculino en un 64% de las mismas. En el estudio mencionado anteriormente de Matte y col. (7) ADN extraño fue obtenido en el 19% de las muestras subungueales tomadas a 14 miembros del staff de su laboratorio, en el 14% de las muestras de 25 estudiantes universitarios que compartían habitación, y en el 23% de un muestreo realizado entre otros 50 estudiantes universitarios. En experimentos donde se realizaron distintos tipos de raspado con las uñas de un individuo sobre en antebrazo de otro del sexo opuesto, ADN extraño fue detectado en el 30% de los casos cuando el raspado fue moderado, y resultando negativo después de 5-6 horas de realizado el mismo. Cuando el raspado fue intenso, la detección fue del 40% y después de 5-6 horas dicho valor se redujo a un 10%. Además, en los casos controles donde previamente al raspado se realizó una buena higienización de manos y uñas, en el 13% de las muestras se detectó ADN extraño.

Estos estudios indican que se requiere más que un simple contacto casual con otro individuo para adquirir y mantener material genético extraño en el hiponiquio, sugiriendo que distintos líquidos corporales como saliva, sangre o semen entre otros, más que el de células de la piel, deberían contribuir principalmente a la detección de ADN extraño en muestras subungueales.

En el presente estudio detectamos ADN extraño en solo el 8,8% de las muestras subungueales analizadas, resultando un valor bajo si se lo compara con los estudios mencionados anteriormente, incluso los realizados en población general. Esto podría deberse a que la mayoría de las muestras hayan sido remitidas de forma rutinaria para el análisis del ADN, sin una selección previa de los casos realizada en base al análisis los hechos acontecidos durante la comisión de cada delito.

A partir de las muestras tomadas por hisopado se recuperó el mayor porcentaje de perfiles genéticos (76,5%), lo cual podría sugerir que esta metodología debería ser la empleada preferentemente para la recolección de muestras. Sin embargo, en estas se detectó el menor porcentaje de ADN extraño.

CONCLUSION

Dada la baja incidencia de ADN extraño recuperado de las muestras subungueales analizadas, concluimos que esta peritación no debería ser encomendada de rutina, sino solo en aquellos casos en los que la Instrucción, después de un análisis exhaustivo de los hechos acontecidos, infiera un contacto físico probable entre la víctima y agresor que pudiera haber generado transferencia de material genético entre ambos.

REFERENCIAS

- (1) M. Sanchez-Hanke, K. Puschel, C. Agustin, P. Wiegand, B. Brinkmann. PCR-Typing of DNA extracted from epidermal particles by scratching. *Adv. Forensic Haemogenet.* 6 (1996) 316-318.
- (2) A. Piccinini, F. Betti, M. Capra, A. Comino, A 5-year study on DNA recoved from fingernail clippings in homicide cases in Milan. *Prog. Forensic Genet* 9 (2003) 929-932.
- (3) A. Fernandez Rodriguez, M.J. Iturralde, L. Fernandez de Simón, J. Capilla, M. Sancho. Genetic analysis of fingernail debris: applications to forensic casework. *Prog. Forensic Genet.* 9 (2003) 921-924.
- (4) O. Cook, L.A. Dixon. The prevalence of mixed DNA profiles in fingernail samples taken from individuals in the general population. *Forensic Sci. Int. Gen.* 1 (1) (2007) 62-68.
- (5) A.R. Henderson, K. Lai, T.E.B. Power, O.J. Samson, S.E. Scott, S.K. Vintiner. Prevalence of foreign DNA under the fingernails. En: *Proceedings of the Challenges and Changes 17th International Symposium on the Forensic Sciencies, Wellington, NZ, 2004.*
- (6) S. Malsom, N. Flanagan, C. McAlister, L. Dixon. The prevalence of mixes DNA profiles in fingernail samples taken from couples who co-habit using autosomal and Y-STRs. *Forensic Sci. Int. Gen.* 3 (2009) 57-62.
- (7) M. Matte, L. Williams, R. Frappier, J. Newman. Prevalence and persistence of DNA beneath fingernails. *Forensic Sci. Int. Gen.* 6 (2012) 236-243.
- (8) K. Lai, O. Samson, S. Vitiner. An evaluation of the routine DNA analysis of fingernail debris in forensic casework. En: *Proceedings of the 17th International Symposium on the Forensic Sciences, “Challenges and Changes”, Wellington, NZ, 2004.*

- (9) Manual de Laboratorio de la Sección Análisis Comparativo de ADN- Última revisión Noviembre de 2011.
- (10) Walker J.A., Hedges D. J., Perodeau B.P., Landry K.E., Stoilova N., Laborde M.E., Shewale J., Sinha S.K., Batzer M.A. Multiplex polymerase chain reaction for simultaneous quantitation of human nuclear, mitochondrial, and male Y-chromosome DNA: application in human identification. *Analytical Biochemistry*, 337, 89-97, 2005.
- (11) Applied Biosystems. GeneMapper™ ID Software Version 3.2. Human Identification Analysis User Guide.
- (12) Carralero Yepes, Jesús. Matemáticas Aplicada a la Genética Forense. Editado por Ministerio del Interior de España. 2006
- (13) Evet I.W., Weir B.S. Interpreting DNA Evidence: Statistical Genetics for Forensic Scientists. Sinauer Associates Inc.1998
- (14) Vázquez B.S., Vicentin A.A., Vázquez L.E, Martínez G.G. Evaluación de un nuevo programa BDGen, como base de datos y análisis estadístico de patrones genéticos. VII Jornadas de Genética Forense, reunión del Grupo Español y Portugués de la ISFG. Barcelona, 4-7 de junio de 2002.
- (15) Antonio Vozmediano González, Genética Forense v2.55, (2013). (<http://antonio.scienceontheweb.net>)
- (16) Bozzo, W.R.; Pena, M.A.; Ortíz, M.I.; Lojo, M.M. Genetic data from PowerPlex 16 System and Identifiler kits from Buenos Aires Province (Argentina). *Legal Medicine* 9 (2007) 151-153.