

IMPACTO DE LA INCORPORACION DE MUESTRAS FORENSES OBTENIDAS POR TRANSFERENCIA DE CELULAS EPITELIALES EN EL ANALISIS DE ADN.

Colussi AC, Bozzo WR, Laborde L, Ortiz MI, Canutti LJ, Carini GM, Pozzi E, Lojo MM.

Sección de Análisis Comparativo de ADN, Asesoría Pericial Departamental La Plata, Dirección General de Asesorías Periciales, Suprema Corte de la Provincia de Buenos Aires, Calles 41 y 119, CP 1900, La Plata.

RESUMEN

Los avances experimentados por los métodos de extracción y purificación de ADN, la optimización de los reactivos de identificación humana y el desarrollo de plataformas analíticas para los productos de amplificación, ha generado en su conjunto un recurso importante para el tratamiento de muestras con escasa cantidad de ADN. Actualmente es posible trabajar con muestras asociadas a la transferencia de material biológico por roce o tocamiento.

Esta nueva posibilidad experimental no sólo ha ampliado el número de rastros analizables, sino que también ha impulsado el aumento de pericias solicitadas en el marco de causas correspondientes a delitos menores (tales como robos y hurtos). Actualmente, el 18,5 % de las solicitudes ingresadas en nuestro Laboratorio incluyen este tipo de muestras.

Los rastros de contacto requieren un tratamiento especial, no solo en la metodología experimental de abordaje, sino también respecto de la interpretación de los perfiles genéticos resultantes. En el último relevamiento realizado en el Laboratorio surge que solo en el 23 % de las muestras de toque procesadas se logro la obtención de perfiles, no siempre aptos para cotejo.

INTRODUCCION

En delitos criminales de diversa índole, el cotejo de perfiles de ADN es una herramienta de uso corriente en el análisis de rastros biológicos. Asociado a este tipo de pericias, las pruebas de determinación de manchas resultan imprescindibles para orientar la selección de muestras que posteriormente serán sujetas a extracción de ADN, detectando la presencia de fluidos biológicos tales como semen, sangre y saliva. En

general, este tipo de muestras están vinculados a delitos graves, como homicidios y violaciones, donde es probable obtener evidencias importantes vinculadas directamente al caso en cuestión. En estos casos se obtiene en general perfiles genéticos de buena calidad y aptos para la interpretación de resultados. El mejoramiento en las técnicas de extracción y la puesta a punto de sistemas de detección más eficientes, (1,2) ha permitido una ampliación del abanico de muestras, incorporando aquellas obtenidas por transferencia de material genético a superficies de toque o de contacto (3). Dada la procedencia estimada de este material biológico, no se realizan pericias previas y se considera que el material se ha transferido por exfoliación, sudoración o inclusive por posible transferencia de saliva o mucosidades respiratorias (4).

OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivos evaluar las solicitudes que incorporan muestras de transferencia o de toque a las pericias de rutina, la obtención de perfiles asociados a este tipo de rastros y su impacto en la investigación criminal.

MATERIALES Y METODOS

Se analizaron un total de 952 muestras: 845 de ellas obtenidas a partir de hisopados realizados a superficies de transferencia por toque directo, 90 fueron obtenidas por recorte de superficies de roce o de contacto, 5 realizadas por lavado de superficies de contacto y 12 obtenidas por films adherentes.

Extracción de ADN: La extracción de ADN fue realizada por medio del kit de QIAGEN con el protocolo habitual del Laboratorio para muestras de toque, en cabinas de seguridad biológica, incluyendo controles de extracción y blancos de reactivos y soportes, así como también el cotejo de los perfiles obtenidos con bases de eliminación del personal interviniente (5). Las muestras de ADN se amplificaron por PCR (Polimerase Chain Reaction) mediante el uso de kits comerciales. Las variantes obtenidas fueron detectadas por electroforesis capilar en el equipo ABI 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems / HITACHI), y analizadas mediante el software GeneMapper Version 3.2 (9).

RESULTADOS

Durante el periodo que media entre el inicio del año 2010 y agosto de 2013, sobre un total de 2273 pericias forenses realizadas, 195 correspondieron a rastros biológicos de contacto. Esto representa 8.6 % del total de pericias realizadas. La comparación de los porcentajes de ingreso por año relevado pone en evidencia un incremento sostenido en las solicitudes de este tipo de pericias, que este último año alcanza porcentajes cercanos al 18.5%.

Tabla 1: Distribución porcentual de causas estudiadas de acuerdo al título de delito investigado

TIPO DE DELITO	CAUSAS	PORCENTAJE (N= 195)
Homicidios	95	48.7
Robos	80	41.0
Abuso Sexual	7	3.6
Otros ¹	13	6.7

¹Corresponde a privación ilegal de la libertad, averiguación de causales de muerte, denuncias varias y abigeato

La distribución de las muestras con relación al delito investigado se reproduce en la Tabla 1. El mayor número de muestras ingresadas correspondieron a causas de homicidio y robo, que comprenden casi el 90% del total de muestras de toque procesadas.

En la Tabla 2 se muestra la clasificación de las muestras de acuerdo al origen. El levantamiento del rastro por parte de la instrucción se realizó por hisopado y/o recorte de la zona de transferencia en prendas, guantes, gorros, mascarar, zapatillas, cordones y lazos de ataduras y ahorcamiento. La toma de muestra por hisopado fue la modalidad mas frecuente (72,0%).

Tabla 2: Clasificación de las muestras de ADN de contacto procesadas de acuerdo al soporte de origen

CATEGORÍA	MUESTRAS PROCESADAS	PORCENTAJE (N=195)
Arma De Fuego	60	6,3
Picaporte	27	2,8
Automotores	231	24,3
Prendas	75	7,9
Precintos/Sogas/Cordones	80	8,4
Arma Blanca	62	6,5
Enseres	158	16,6
Gorras	45	4,7
Guantes	48	5,0
Zapatillas	19	2,0
Botellas/Vasos	36	3,8
Descamación	85	8,9
Elemento Contundente	26	2,8

Las muestras de transferencia a superficies de automotores, obtenidas por hisopado comprendieron un 24 % de las muestras relevadas. Le siguen en frecuencia los hisopados de superficies de elementos domésticos de los cuales se conoce su origen, como teclados electrónicos de origen diverso, muebles, perillas, teclas, enseres domésticos, etc. Un 8,9 % de las muestras se describen en el oficio de solicitud como “hisopados por descamación”, sin aclarar el elemento objeto de transferencia.

En el 23.0 % de las muestras analizadas se obtuvieron perfiles genéticos informativos, mientras que en un 6,5 % se obtuvo material genético de baja calidad, caracterizado por perfiles incompletos o con gran número de contribuyentes por lo que los resultados fueron calificados como no concluyentes. En el resto de las muestras no fue posible obtener ADN (Tabla 3).

Tabla 3: Calidad de los perfiles obtenidos a partir de las muestras procesadas

CATEGORÍA	PERFIL	PERFIL NO	SIN	PERFILES
------------------	---------------	------------------	------------	-----------------

	INFORMATIVO	CONCLUYENTE	PERFIL	INFORMATIVOS ¹
Arma De Fuego	8	2	50	13,3%
Picaporte	6		21	22,2%
Automotores	34	18	179	14,7%
Prendas	41	4	30	54,7%
Precintos/Sogas/Cordones	9	4	67	11,3%
Arma Blanca	23		39	37,1%
Enseres	33	20	105	20,9%
Gorras	10	9	26	22,2%
Guantes	15	2	31	31,3%
Zapatillas	1		18	5,3%
Botelas/Vasos	11		25	30,6%
Descamacion	22	3	60	25,9%
Elemento Contundente	6		20	23,1%
Total	219	62	671	23,0%

¹Se refiere al porcentaje de perfiles informativos dentro de cada categoría

DISCUSION

En los últimos años se ha observado un incremento paulatino en las solicitudes de cotejos de ADN en las cuales se contemplan la incorporación de muestras de transferencia por contacto. Este tipo de evidencias se caracterizan por poseer baja cantidad de ADN, por lo que son muy sensibles a la contaminación con ADN foráneo. Por esta razón deben establecerse normas estrictas de trabajo, no sólo para el procesamiento de las muestras sino también para las etapas previas (levantamiento de rastros, envasado y remisión).

La mayor parte de las muestras recibidas consisten en hisopados que representan muestras únicas. Dada la escasa cantidad de material, la muestra se procesa totalmente, es decir que se agota en la instancia de extracción, por lo que en estos casos la prueba es irreproducible.

Tal como se muestra en la Tabla 3 la mayor efectividad en la obtención de perfiles corresponde a las muestras tomadas por recorte. Esta observación no resulta sorprendente si se tiene en cuenta que en estos casos la extracción se realiza en forma directa sobre el soporte, evitando la pérdida de material por transferencia requerida para el levantamiento por hisopado. Sin embargo, dada la heterogeneidad de los soportes, los datos de este relevamiento no permiten evaluar si algunos materiales resultan más adecuados para la retención y/o preservación de material biológico, en coincidencia con reportes previos (6),

El porcentaje elevado de recuperación de perfiles para las armas blancas podría estar sesgado, dado que en la mayoría de los casos el perfil corresponde a la víctima (resultado no mostrado). Estos datos sugieren que en lo que se refiere a la zona de toque de armas blancas y elementos contundentes de agresión, se deberían extremar las precauciones en el hisopado de la zona de transferencia, evitando las zonas mas contaminadas con sangre.

Respecto de los rastros analizados, en el 23 % de las muestras se obtuvo un perfil apto para cotejo. El resultado de la comparación debería ser valorado en función de la muestra analizada y su rol en el contexto del hecho investigado, teniendo en cuenta una posible transferencia de material genético durante la comisión del delito. En un 6% de las muestras se detectaron perfiles incompletos y mezclas con mas de tres aportantes, lo cual dificulta en mayor grado la interpretación de resultados, o dirige el camino experimental hacia protocolos más específicos para tratamiento de muestras de bajo contenido de ADN.

CONCLUSION

La incorporación de muestras de transferencias de material genético o de toque al análisis de ADN representa un segmento cada vez más relevante, involucrando tanto a causas graves como de menor grado. Debido a las particularidades que presentan, este tipo de rastros constituyen un desafío para la optimización de técnicas y protocolos utilizados desde el levantamiento de muestras hasta la culminación de la pericia de ADN.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Westen AA, Nagel JH, Benschop CC, Wieler NE, de Jong BJ, Sijen T. (2009) . Higher capillary electrophoresis injections settings as an efficient approach to increase the sensitivity of STR typing. *J. Forensic Sci.* 54: 591-598.
- 2) Wieler NE, Matai AS, Sijen T. (2011) Extended PCR conditions to reduce drop-out frequencies in low template STR typing including unequal mixtures. *J. Forensic Int. Genet.* doi: 10.1016/j.fsigen.2011.03.002.
- 3) Van Oorschot RA, Ballantyne KN, Mitchell RJ (2010). Forensic trace DNA: a review. *Investg. Genet.* 1:14.

- 4) Quinones I, Daniel B. Cell free DNA as a component of forensic evidence recovered from touched surfaces. *Forensic Science International: Genetics* 6 (2012) 26-30.
- 5) Sección Análisis Comparativo de ADN. Manual de Laboratorio - Última revisión Noviembre de 2011.
- 6) Daly DJ, Murphy Ch, McDermott SD. The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood. *Forensic Science International: Genetics* 6 (2012) 41-46.