

ANÁLISIS DE RESTOS BIOLÓGICOS DEPOSITADOS SOBRE SUPERFICIES COMPLEJAS. EPITELIOS HUMANOS Y ELEMENTOS BALÍSTICOS. ESTUDIO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS DE CASOS REALES.

ANALYSIS OF BIOLOGICAL REMAINS LAID ON COMPLEX SURFACES. HUMAN EPITHELIA AND BALLISTIC ELEMENTS. EXPERIMENTAL STUDY AND ANALYSIS OF REAL CASES.

HOMBREIRO L¹.

RESUMEN:

La pérdida de células epiteliales en los humanos permite su depósito en diferentes superficies, siendo mayor el depósito cuando media fricción o rozamiento intenso. En la práctica forense, muchos delitos contra la vida o integridad física y muy especialmente los delitos contra la integridad e indemnidad sexuales, incluyen algún tipo de forcejeo entre víctima y agresor o bien contacto corporal intenso. La búsqueda de trazas epiteliales por contacto del agresor sobre los epitelios de las víctimas puede tener valor identificativo. Se presenta un estudio experimental y un caso práctico real con resultados positivos. Existen objetos o superficies de muy pequeño tamaño sobre los que el contacto del agresor ha sido escaso, tales como los cartuchos o las balas. Se presenta un estudio experimental con resultado positivo de muestras low level DNA.

PALABRAS CLAVES: células epiteliales, microsatélites (STR), escena del crimen, vestigios biológicos, genética forense, genotipado, muestras de escasa cantidad de ADN, estrangulamiento.

ABSTRACT:

Human epithelial cells settle in different surfaces, being major the warehouse when it happens intense friction. Many crimes against the life or physical integrity and very specially the sexual attacks, include some type of struggle between victim and aggressor or an intense body contact. The search of offender contact traces on the victim skin surfaces can have high statistical value. One presents an experimental study and real casework with positive results. There exist objects or surfaces with very small size like as the bullets. In this surfaces, the skin contact of the aggressor has been scant. One presents an experimental study with a positive results.

KEY WORDS: contact traces, short tandem repeats (STR), crime scene, crime samples, DNA forensics, DNA typing, Low Level DNAsamples (LLDNA), strangulation, skin contact.

CONTACTO: Luis Hombreiro Noriega. Laboratorio de ADN. Policía Científica. Jefatura Superior de Policía de Galicia. C/ Médico Devesa Núñez nº 4, 15008 A Coruña. Email: acoruna.adn@policia.es . Teléfono: 981 166 460.

1. INTRODUCCIÓN.

La búsqueda y recogida de trazas epiteliales de contacto de la escena de los delitos está condicionada por diferentes factores, el tiempo que media entre el depósito por el donante y la recogida de la muestra, el tiempo que media entre esta recogida y su análisis, las condiciones ambientales a las que están sometidas las muestras antes de su recogida y los diferentes tipos de superficie sobre los que

se ha realizado el depósito de los restos biológicos. Las superficies de contacto no siempre son óptimas, resultando en algunos casos muy compleja tanto la recogida de restos epiteliales, como su analítica, siendo frecuente la obtención de electroferogramas de difícil evaluación[6,9].

Un caso muy complejo en su valoración es el del contacto corporal entre agresor y víctima y la posible donación de epiteliales entre ellos.

1 Inspector del Cuerpo Nacional de Policía. Biólogo. Jefe del Laboratorio Territorial de Biología -ADN de la Brigada de Policía Científica- Jefatura Superior de Policía de Galicia.

Se han estudiado múltiples casos de raspados ungueales con éxito. Pero en casos en los que no median erosiones, arañazos u otro tipo de lesión procedente del forcejeo propio entre víctima y agresor, podría ser importante conocer si exclusivamente por el rozamiento que se produce en una estrangulación, en una sujeción con fines de inmovilizar a la víctima o bien en actos libidinosos propios de los delitos contra la libertad sexual, se pueden encontrar restos biológicos del agresor con valor identificativo [1,2,3,4].

Otro tipo de dificultad puede ser cuando superficie de depósito de los restos biológicos es muy reducida. En objetos de muy pequeño tamaño sobre los que el contacto o fricción es leve, puede ser complicada tanto la recogida de muestra como la interpretación de los resultados, tratándose en casi la totalidad de los casos de muestras Low Level DNA con electroferogramas de compleja evaluación y asignación alélica [5].

En este trabajo se pretende evaluar el grado de eficiencia analítica y poder de discriminación genética de restos biológicos sobre dos superficies complejas, las balas o cartuchos y la piel humana.

En el caso de los elementos balísticos hay que tener en cuenta el mecanismo de funcionamiento de un arma de fuego; la introducción en el cargador de las balas exige una fricción o contacto intenso de las manos, en concreto de los dedos, con los cartuchos. La manipulación de un arma al disparar en un caso real puede realizarse observando medidas de prevención, tales como guantes, para evitar la recogida de muestras lofoscópicas y biológicas en la superficie externa del arma. Pero los elementos balísticos han tenido que ser introducidos en el cargador previamente a su uso lesivo. Es por ello que aunque la superficie de un arma aporte un resultado negativo en cuanto a vestigios biológicos, los elementos balísticos pueden y deben ser analizados, para comprobar si sobre ellos pueden existir depósitos de células epiteliales con valor identificativo. Se plantea un estudio bajo

condiciones experimentales de laboratorio con cinco cartuchos introducidos en un cargador 48 horas antes de ser disparados. El uso y manipulación del arma fue realizada por personal especializado de la Brigada de Policía Científica de la Jefatura Superior de Policía de Galicia, diferente al donante de restos que manipuló las vainas. La recogida de las vainas y la toma de la muestra fue realizada por personal especializado del Laboratorio de ADN de la misma unidad científica, obviamente distinto al donante, para evitar cualquier traza de contaminación o transferencia.

En el caso de los depósitos sobre piel humana se analizaron muestras mezcla de varias parejas "*hombre (agresor) – mujer (víctima)*" en condiciones de laboratorio, investigando la persistencia de trazas biológicas de contacto del primer donante (agresor) sobre superficies epiteliales de un segundo donante (víctima). El diseño experimental se planteó sobre la base de limitar el número de variables relacionadas, de tal forma que sólo el efecto del tiempo afectaba a la recuperación de ADN nuclear. Se planteó la variable temporal entre el depósito de las epiteliales sobre la superficie de adherencia y el acto de recogida de las muestras, para comprobar el límite en el que se produce la pérdida de eficiencia analítica sobre las trazas procedentes del donante agresor. Se comparan las cantidades de ADN nuclear obtenidas en estas muestras con las obtenidas en las muestras de referencia o indubitadas de los propios donantes *agresor/víctima*, con el objeto de evaluar los porcentajes de contribución genética en la mezcla de los donantes y la correcta o incorrecta asignación alélica en las muestras problema [7,8].

Se valoró la tipología delictiva que incluye contacto físico entre el agresor y la víctima, en concreto se utilizó como método de trabajo en condiciones experimentales de laboratorio la simulación de un estrangulamiento sobre los brazos de la víctima. La posibilidad de comparación con casos reales de agresión sexual, con autores juzgados y con condenas firmes, en los que la muestra epitelial de

contacto se tomó en la cara interna de los muslos de la víctima, permite evaluar las posibilidades reales de los restos biológicos sobre este tipo de superficies, completando el estudio con las valoraciones estadísticas y probabilísticas mediante el Índice de Verosimilitud o *Likelihood Ratio* [5] y considerando la variable temporal que puede influir en la obtención de un resultado con valor identificativo o no.

2. OBJETIVOS.

Los objetivos del presente trabajo son comprobar, bajo condiciones de laboratorio, si el análisis de restos epiteliales sobre epitelios humanos y elementos balísticos de muy pequeño tamaño puede aportar un resultado positivo con valor identificativo. En segundo lugar, evaluar la importancia del factor temporal que media entre el depósito y la recogida de las evidencias. En tercer lugar, presentar la aplicación real del estudio y las conclusiones en casos reales. El análisis de los resultados obtenidos a nivel experimental y en la casuística de trabajo real permitirá a los equipos forenses realizar una evaluación más objetiva y eficiente de la posible recogida de restos biológicos sobre determinadas superficies que se presentan en este estudio y cualesquiera otras que pudieran asemejarse en condiciones y características.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

A) ESTUDIO SOBRE EPITELIOS HUMANOS Y ELEMENTOS BALÍSTICOS.

El estudio sobre epitelios humanos consta de dos partes, una experimental bajo condiciones controladas de laboratorio en cuatro parejas objeto de estudio y otra el estudio de un caso real con contacto entre agresor y víctima, que se definen a continuación. El estudio sobre elementos balísticos consta del análisis de seis balas sin disparar que fueron introducidas en un cargador de pistola 48 horas antes de la toma

de la muestra.

1. Diseño experimental bajo condiciones de laboratorio.

a) Superficies epiteliales humanas.

Se simula un estrangulamiento mediante el agarre y fricción de las manos del donante A (agresor) sobre el brazo del donante B (víctima) en cuatro parejas varón – hembra. A estas muestras se añaden las muestras indubitadas de epitelio bucal del agresor y la víctima. La superficie de contacto es el epitelio plano estratificado del brazo, en su mitad aproximadamente entre el codo y la muñeca, tanto en la cara anterior como en la posterior. La fricción duró aproximadamente 1 minuto, simulando el tiempo mínimo de estrangulamiento.

b) Superficies de elementos balísticos.

La superficie de contacto es una bala del calibre nueve milímetros corto (9 mm C) introducida en el cargador original de una pistola semiautomática de la marca STAR del mismo calibre. La fricción sobre la bala al introducirla en el cargador tuvo una duración de 5 segundos.

c) Muestras en epitelios humanos.

Se realizó la toma de muestra en experimentos diferentes en los dos brazos izquierdo y derecho en dos tiempos de control: 15 minutos (brazo izquierdo) y 60 minutos (brazo derecho). El material utilizado en los frotis de recogida de evidencias fueron torundas de algodón estériles impregnadas en agua Mili-Q autoclavada a 150 °C y guantes estériles de un solo uso y el personal de recogida de las evidencias fue diferente en los casos de las cuatro parejas y en los dos tiempos de control y a su vez diferente del que realizó los análisis de extracción, purificación y análisis de DNA, con el objeto de detectar posibles contaminaciones de la muestra, dado

que se tienen los datos de perfiles genéticos de víctima y agresor.

d) Muestras en elementos balísticos.

El material utilizado en los frotis de recogida de evidencias fueron torundas de algodón estériles impregnadas en agua Mili-Q autoclavada a 150 °C y guantes estériles de un solo uso y el personal de recogida de las evidencias fue diferente al que realizó los disparos y la recogida de las evidencias en la galería de tiro, y a su vez diferente del que realizó la extracción, purificación y análisis de DNA, con el objeto de detectar posibles contaminaciones de la muestra, dado que se tienen los datos de la persona que manipuló las balas para introducirlas en el cargador.

e) Extracción y Purificación de ADN.

La preparación de ADN para la extracción se realizó mediante la maceración a 37°C durante 24 horas en buffer de extracción con dodecil sulfato sódico (SDS), EDTA, TRIDNA base y Cloruro Sódico (NaCl) más la adición de proteinasa K. Posteriormente se realizó una extracción mediante separación de fases con Fenol/Cloroformo/Alcohol Isoamílico y un purificado con columnas de purificación Amicón Ultra 100 (membrana de 100 Amstrong de tamaño de poro) obteniendo volúmenes finales entre 80 y 150 microlitros.

f) Análisis de Datos de DNA.

Una vez cuantificado el ADN mediante PCR Real Time y el kit Human Quantifiler de Life Technologies – Applied Biosystems se realizó amplificación con el kit NGM-Selecta y el kit Identifiler Plus de Life Technologies – Applied Biosystems en un sistema termociclador GeneAmp 9700 de la misma casa comercial. Los 28 ciclos de replicación contenían 2 microlitros del extracto original diluido para una concentración de 0.1 nanogramos/microlitro. El uso de ambos kits permite establecer la

reproducibilidad de resultados en los mismos marcadores.

Posteriormente se realizó la electroforesis capilar con un parámetro de 5 segundos de inyección mediante un Analizador Genético 3130 de Life Technologies – Applied Biosystems.

g) Análisis estadístico de Likelihood Ratio (L.R.).

Para el análisis estadístico del índice de verosimilitud de las mezclas forenses se utilizó el software FAMILIAS, desarrollado por el Instituto de Medicina Forense de Oslo (Noruega), validado para el cálculo de L.R. y utilizado en la práctica totalidad de Laboratorios de Genética Forense a nivel mundial.

2. Casuística real.

a) Superficies.

Tras un caso real de agresión sexual en el que medió contacto físico entre agresor y víctima se tomó un frotis de posibles trazas biológicas de contacto en la cara interna de los muslos de la víctima. Dicha recogida se practicó por personal médico – forense durante el estudio facultativo de la víctima en aproximadamente una hora y cuarenta y cinco minutos después de la agresión. La toma de muestra se realizó mediante el uso de torundas de algodón y guantes estériles de un solo uso.

b) Muestras.

Se dispuso de muestras indubitadas de víctima y sospechoso, consistentes en frotis de epitelio bucal indubitado. De igual forma, se dispuso de una muestra vaginal de la víctima con componente espermático del agresor. El material utilizado en la recogida de todas las evidencias fueron torundas de algodón estériles impregnadas en agua Mili-Q

autoclavada a 150 °C y guantes estériles de un solo uso y el personal de recogida de las evidencias fue diferente del personal que realizó los análisis.

c) Extracción y Purificación de ADN.

La preparación de ADN para la extracción se realizó mediante la maceración a 37°C durante 24 horas en buffer de extracción con dodecil sulfato sódico (SDS), EDTA, TRIDNA base y Cloruro Sódico (NaCl) más la adición de Proteínasa K. Posteriormente se realizó una extracción mediante separación de fases con Fenol/Cloroformo/Alcohol Isoamílico y un purificado con columnas de purificación Amicón Ultra 100 (membrana de 100 Amstrong de tamaño de poro) obteniendo volúmenes finales entre 80 y 150 microlitros.

En el caso de la muestra vaginal de la víctima, con componente espermático, se realizó una extracción diferencial, consistente en un segundo paso de macerado con el pellet o precipitado de la centrifugación del primer macerado a 12.000 rpm durante 5 minutos. En este segundo macerado se añadió al mismo buffer de extracción, proteínasa K y Ditiotreitil (DTT) como agente reductor para destruir los puentes disulfuro de la cabeza espermática.

d) Análisis de Datos de DNA.

Una vez cuantificado el ADN mediante PCR Real Time y el kit Human Quantifiler de Life Technologies – Applied Biosystems se realizó amplificación con el kit NGM-Selecta de Life Technologies – Applied Biosystems en un sistema termociclador GeneAmp 9700 de la misma casa comercial. Los 28 ciclos de replicación contenían 2 microlitros del extracto original diluido para una concentración de 0.1 nanogramos/microlitro.

Posteriormente se realizó la electroforesis capilar con un parámetro de 5 segundos de inyección mediante un Analizador Genético 3130 de Life Technologies – Applied

Biosystems.

e) Análisis estadístico de Likelihood Ratio (L.R.).

Para el análisis estadístico del índice de verosimilitud de las mezclas forenses se utilizó el software FAMILIAS, desarrollado por el Instituto de Medicina Forense de Oslo (Noruega), validado para el cálculo de L.R. y utilizado en la práctica totalidad de Laboratorios de Genética Forense a nivel mundial. Se realizó el cálculo de la mezcla obtenida en la fracción diferencial diploide de la muestra con componente espermático así como de la mezcla obtenida de la muestra de trazas epiteliales sobre la cara interna de los muslos de la víctima.

4. RESULTADOS.

A) RESTOS BIOLÓGICOS DEPOSITADOS SOBRE EPITELIOS HUMANOS.

En la tabla 1 se muestran los valores de cuantificación del diseño experimental y del caso real en todas las muestras obtenidas. Como se puede observar, los valores de cuantificación son correctos y esperados en el caso de las muestras indubitadas, con una buena concentración de ADN derivada de una alta eficiencia en la extracción. Difiere en relación con las muestras dubitadas, con valores mucho más bajos, tratándose de trazas epiteliales por contacto. En el caso real puede observarse la comparación entre los valores de la mezcla de la víctima procedente del lavado vaginal tras la violación y la muestra de trazas epiteliales tomada sobre epitelios de las piernas de la víctima. El segundo caso real presenta unos valores de cuantificación similares en valores y en interpretación.

En las Imágenes 1, 2 y 3 se muestran los electroferogramas de algunos marcadores autosómicos, comparando el agresor de la pareja A, su víctima y la muestra mezcla de epiteliales por contacto tomada a los 60

EXPERIMENTAL			CASEWORK	
Muestra	Valor Qf 15´	Valor Qf 60´	Muestra	Valor Qf
Mezcla pareja A	0.0526	0.0377	Agresor	18.5
Mezcla pareja B	0.0887	0.0497	Víctima	12.52
Mezcla pareja C	0.0751	0.0831	Mezcla 2n vaginal	0.207
Mezcla pareja D	0.0846	0.0728	Mezcla epitelios	0.181
Indubitada Agresor A	17.3			
Indubitada Víctima A	8.1			
Indubitada Agresor B	6.8			
Indubitada Víctima B	7.1			
Indubitada Agresor C	8.14			
Indubitada Víctima C	5.47			
Indubitada Agresor D	19.2			
Indubitada Víctima D	26.5			

Tabla 1. Se muestran los valores de cuantificación de ADN en microgramos/microlitro.

minutos sobre el brazo de la víctima. Se puede observar como existe una mezcla con ambos componentes indubitados, que actúan como contribuyentes de la muestra problema. En muchos de los marcadores analizados se puede observar que el perfil genético del agresor es, como era de esperar, el componente minoritario de la mezcla. En todo caso, los valores de los alelos detectados se encuentran por encima del límite de detección estimado de 150 rfu. En la valoración de los

fenómenos estocásticos que pueden ocurrir en estos casos de mezclas podemos considerar el marcador D21S11, en el que uno de los alelos (31) correspondiente al donante agresor no es detectado en el electroferograma. En los otros tres marcadores se pueden observar mezclas de los dos componentes indubitados, apreciándose en los marcadores D8S1179 y D7S820 un claro componente minoritario que corresponde al donante agresor A.

1. Resultados experimentales pareja A.

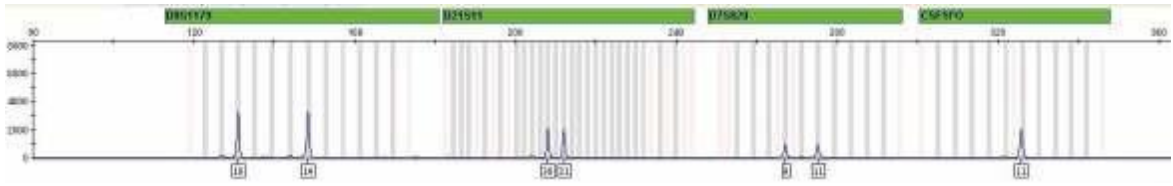


Imagen 1: Electroferograma del agresor A.

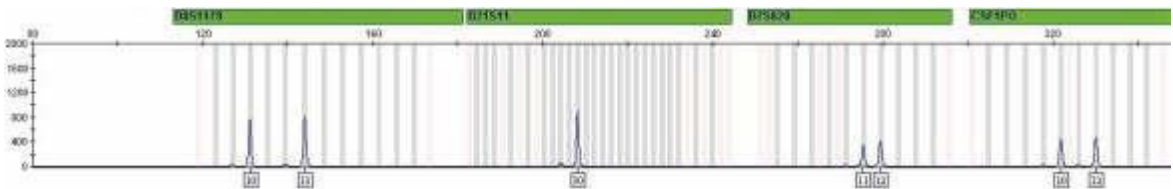


Imagen 2: Electroferograma de víctima A.

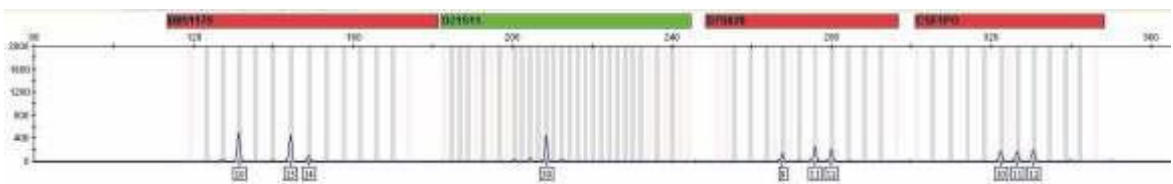


Imagen 3. Mezcla de perfiles genéticos (XY) de restos biológicos sobre epitelios del brazo en pareja A.

En las Imágenes 4,5,6 y 7 se muestran los electroferogramas de unos marcadores diferentes, comparando el agresor de la pareja B, su víctima y la muestra mezcla de epiteliales por contacto tomada a los 60 minutos. Se puede observar como existe una mezcla con ambos componentes indubitados, que actúan como contribuyentes de la muestra problema. Se comprueba que el componente minoritario de la mezcla coincide casi plenamente con el agresor, dato esperado por lógica. En algunos marcadores, tales como D3S1358 y D16S539,

es evidente incluso visualmente la contribución minoritaria del perfil del donante agresor en la mezcla de trazas biológicas por contacto. En la comparativa de los datos obtenidos con el kit identifiler plus y el kit NGMSelecta, puede observarse que en los dos marcadores coincidentes (D2S1338 y D16S539) en la línea de muestra los resultados son similares, si bien en NGMSe no es sencillo distinguir los componentes mayoritario y minoritario, pero el resultado es claramente reproducible con dos kits de amplificación diferentes.

2. Resultados experimentales pareja B.

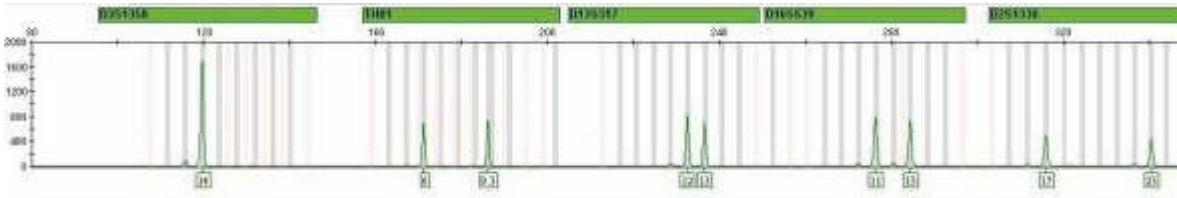


Imagen 4. Electroferograma del agresor B.



Imagen 5. Electroferograma de la víctima B.

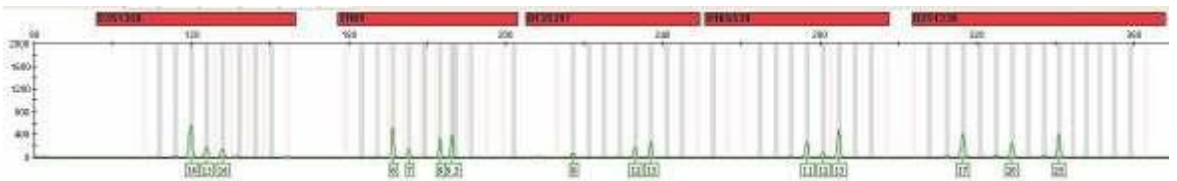


Imagen 6. Mezcla de perfiles genéticos (XY) de restos biológicos sobre epitelios del brazo en pareja B, analizada con el kit Identifiler plus.



Imagen 7. Mezcla de perfiles genéticos (XY) de restos biológicos sobre epitelios del brazo en pareja B, analizada con el kit NGM-Se.

3. Resultados del caso real.

En las Imágenes 8, 9, 10, 11 y 12 se muestran los electroferogramas de las muestras del caso real, mostrando sólo algunos marcadores, comparando el perfil genético del sospechoso de la agresión con el perfil genético de la víctima, con la mezcla de epiteliales por contacto tomada en la cara interna de los muslos de la víctima, comparada con la mezcla de células diploides obtenida del lavado vaginal de la víctima, en la que hay componente espermático y también comparado con la fracción masculina de esta

última muestra obtenida por extracción diferencial de los componentes haploide y diploide de la misma. Estas muestras, que fueron tomadas casi dos horas después de la comisión del delito, aportan unos resultados óptimos en los electroferogramas, con un alto valor identificativo. El estudio comparado de los datos presentados permite afirmar que el mismo perfil del sospechoso se repite en la fracción masculina del lavado vaginal de la víctima y que la mezcla originada por la víctima y el sospechoso se correspondería fielmente con la mezcla evidenciada en la fracción diploide del

lavado vaginal, así como con la mezcla de epiteliales sobre los muslos de la víctima. Incluso los valores de unidades de fluorescencia e intensidad de la señal electroforética son

mejores en la muestra de trazas epiteliales de contacto, lo que indica el alto poder de discriminación y eficiencia de este tipo de muestra.

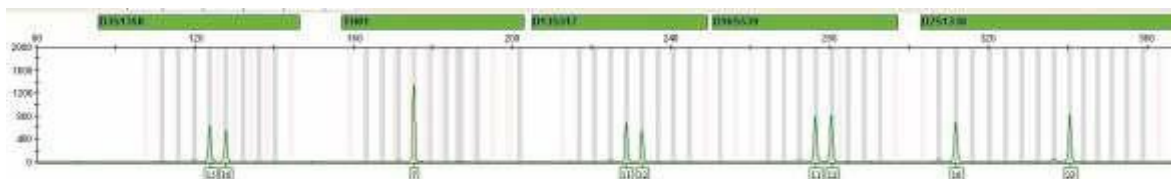


Imagen 8. Electroferograma de la muestra indubitada de la víctima XX.

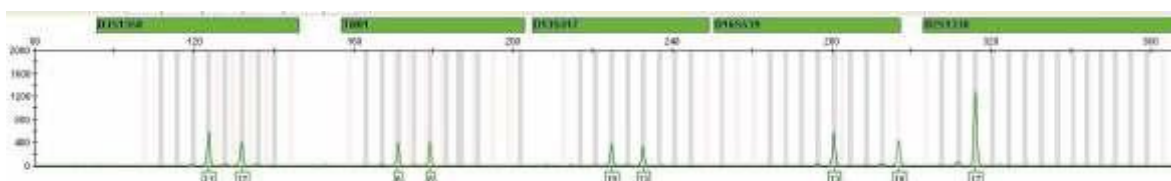


Imagen 9. Electroferograma de la muestra indubitada del autor confeso y condenado XY.

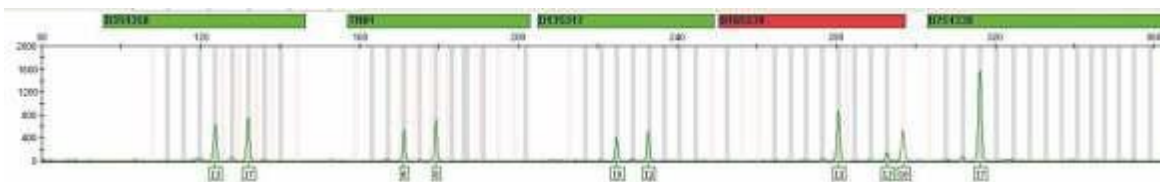


Imagen 10. Electroferograma de la fracción masculina (haploide XY) obtenida por extracción diferencial en el lavado vaginal de la víctima.

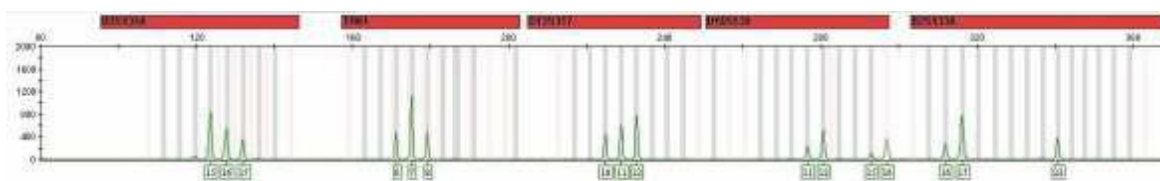


Imagen 11. Electroferograma de la muestra de restos biológicos tomada sobre el muslo de la víctima. Se observa una mezcla de perfiles genéticos XY.

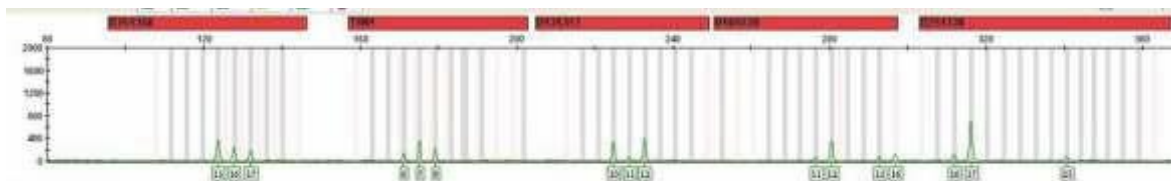


Imagen 12. Electroferograma de la muestra obtenida del lavado vaginal de la víctima, XY.

En la tabla 2 se muestran los valores del índice de verosimilitud (Likelihood Ratio) de todas las mezclas de trazas epiteliales del diseño experimental y también de la mezcla de epiteliales sobre epitelio de la víctima del caso real. Como se puede ver, los valores son del orden de miles de billones o cientos de miles de billones, lo que en una definición estricta de la L.R. significaría que es cientos de miles de

billones de veces más probable que la mezcla de perfiles genéticos evidenciada en la muestra de trazas epiteliales sobre epitelios haya sido formada por la contribución del perfil genético del donante agresor conocido y del perfil genético de la donante víctima conocida que si hubiese sido formada por la víctima y otro perfil escogido al azar en la población.

MUESTRA	LIKELIHOOD RATIO (L.R.)
MEZCLAA	>265.000 billones
MEZCLAB	>367 trillones
MEZCLAC	>156.000 billones
MEZCLAD	>3 trillones
MEZCLACASO REAL	>300.000 billones

Tabla 2: Se muestran los valores de L.R. de las mezclas experimentales y del caso real.

B) RESTOS BIOLÓGICOS DEPOSITADOS SOBRE ELEMENTOS BALÍSTICOS.

De las seis muestras (balas) analizadas, la que obtuvo el mayor nivel de cuantificación alcanzó el valor 0.0278 nanogramos/microlitro, resultando un electroferograma de difícil interpretación, con intensidad de fluorescencia muy baja, por debajo de los límites de asignación alélica en muchos marcadores. En

este caso, de tipo experimental, el donante era conocido y los marcadores que se muestran en la imagen 13 son coincidentes en las asignaciones alélicas. El resultado aporta muestras de muy bajo nivel de ADN y difícil interpretación, pero que, en función de diferentes factores, pueden y deben ser analizadas para comprobar si los resultados son o no significativos.

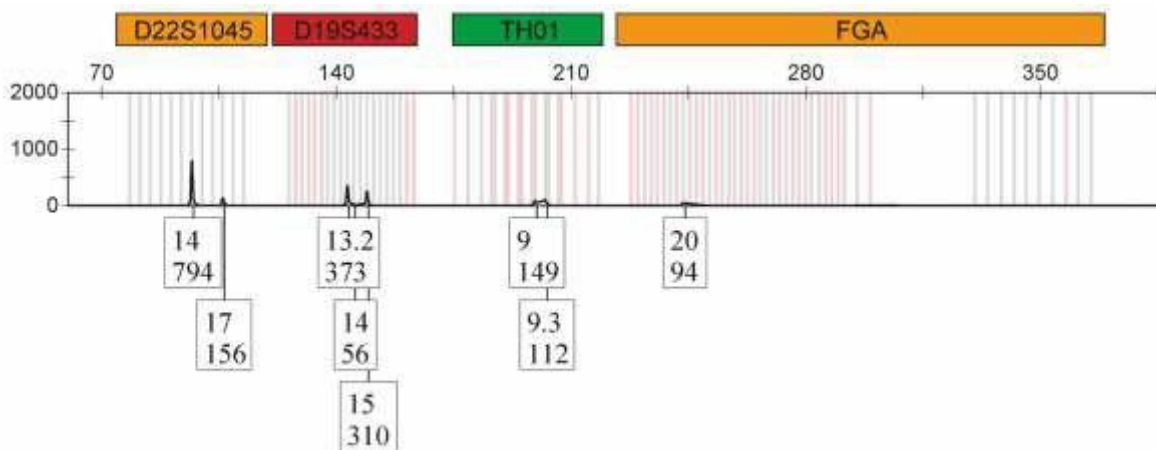


Imagen 13. Electroferograma de restos biológicos depositados sobre la superficie de una bala en su introducción en el cargador de una pistola.

5. DISCUSIÓN.

Los datos experimentales confirman que las trazas epiteliales de contacto depositadas sobre epitelios humanos son potencialmente una fuente de ADN nuclear que puede ser recogida, analizada y evaluada estadísticamente aportando unos altos índices de discriminación e individualización. Este poder de discriminación permite la identificación de perfiles genéticos de agresores en caso de contacto físico con el cuerpo de una víctima. En este trabajo no sólo se ha trabajado con un diseño experimental de laboratorio, recreando o simulando un estrangulamiento y controlando factores ambientales externos, sino que se ha realizado una comparación con muestras y resultados pertenecientes a un caso real, en el que una muestra de células epiteliales del agresor ha sido transferida por contacto – fricción al propio epitelio de la víctima. La interpretación de esta mezcla en el caso real se ve apoyada no sólo por la valoración estadística, sino porque es plenamente coincidente con la mezcla obtenida del lavado vaginal, lo que apoya aún más la efectividad de estas trazas epiteliales de contacto. Los datos obtenidos al variar el factor tiempo transcurrido desde el depósito de las epiteliales hasta la recogida de las mismas nos indica que hasta las dos horas de intervalo temporal el resultado del análisis de estas muestras es positivo y con claro valor identificativo. No se ha detectado ninguna pérdida de intensidad electroforética en las muestras epiteliales del caso real recogidas casi dos horas después en relación con las muestras del diseño experimental recogidas a los 15 minutos y a los 60 minutos desde su depósito, lo que indica que el punto de inflexión para iniciar la pérdida de eficiencia en el análisis de ADN nuclear se encuentra por encima del límite de dos horas. La pérdida de poder identificativo y las dificultades de detección del componente minoritario (agresor) debería de ser evaluado con intervalos más amplios de tiempo y con un número muy superior de parejas y muestras. Las valoraciones estadísticas de los cuatro casos simulados del diseño experimental tienen un valor del orden de miles de billones, lo que pone de manifiesto su eficiencia analítica y su importancia como evidencia forense en el

campo de la criminalística, con un alto valor identificativo. Si bien los fenómenos estocásticos, pérdidas alélicas (drop out) o inserciones alélicas (drop in por contaminaciones) o las dificultades en la consideración de algún componente alélico (stutters) son muy frecuentes cuando la intensidad electroforética (cantidad de ADN) es baja, los resultados con este tipo de muestras epiteliales sobre epitelios han de ser considerados como muy importantes en la práctica forense.

En el caso presentado de obtención de restos biológicos por contacto sobre superficies de muy reducido tamaño y sobre las que se ha efectuado una mínima fricción o rozamiento, los resultados indican que sí se pueden detectar estas trazas epiteliales por contacto, incluso mediando tiempos altos (48 horas) entre el depósito y la recogida. Aunque la asignación alélica final pueda ser compleja o incluso no concluyente, no pueden dejar de considerarse como muestras a recoger en la práctica forense, puesto que pueden aportar datos genéticos, perfiles parciales o totales. No es comparable la fricción efectuada en el caso de los estrangulamientos o rozamientos por delitos sexuales en las partes íntimas de las víctimas con el mínimo contacto realizado sobre los elementos balísticos, lo que aporta un significado e importancia aún mayor a esta última tipología de muestra. La obtención de un perfil con valor identificativo podría aportar datos sobre quién introdujo esos elementos balísticos en el cargador, aunque el autor del hecho haya utilizado medidas de prevención (guantes) en la manipulación del arma. La sensibilidad de las técnicas empleadas es muy alta y debiera considerarse la realización de un estudio mucho más amplio tanto en número de muestras como en la variación de los factores temporales.

6. BIBLIOGRAFÍA.

1. WICKENHEISER RA. Trace DNA: A review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact. *Journal of Forensic Science* 2002;47(3):442-450.
2. RUTTY GN. An investigation into the transfer and survivability of human DNA following simulated manual strangulation with consideration of the problem of third

party contamination. *International Journal of Legal Medicine* 2002;116(3):170-173.

5. RAYMOND JJ, WALSH SJ, VAN OORSCHOT RA, GUNN P, ROUX C. Trace DNA: An underutilised Resource or Pandora's Box? A Review of the use of Trace DNA Analysis in the Investigation of Volume Crime. *Journal of Forensic Identification* 2004;54(6):668-686.
6. TARONI F, AITKEN CG. Probabilistic reasoning in the law. Part 2: Assessment of probabilities and explanation of the value of trace evidence other than DNA. *Science and Justice* 1998;38(3):179-188.
7. DRÁBEK. Validation of software for calculating the likelihood ratio for parentage and kinship", *FSI: Genetics*, Volume 3, Issue 2, Pages 112-118, (2008).
8. LOWE A, MURRAY C, WHITAKER J, TULLY G, GILL P. The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces. *Forensic Science International* 2002;129(1):25-34.
9. PHIPPS M, PETRICEVIC SF. The tendency of individuals to transfer DNA to handled items. *Forensic Science International* 2006;168(2-3):162-168.
10. RAYMOND JJ, WALSH SJ, VAN OORSCHOT RA, GUNN PR, EVANS L, ROUX C. Assessing trace DNA evidence from a residential burglary: Abundance, transfer and persistence. In: 22nd Congress of the International Society for Forensic Genetics; 2007; Copenhagen, Denmark; 2007.
11. LEEMANS P, VANDEPUT A, VANDERHEYDEN N, CASSIMAN J-J, DECORTE R. Evaluation of methodology for the isolation and analysis of LCN-DNA before and after dactyloscopic enhancement of fingerprints. *International Congress Series* 2006;1288:583-585.