

OBTENCIÓN DE ADN DE CONTACTO DE UNA PALANCA DE GRANADA MEDIANTE LA TECNICA DE RE SUSPENSIÓN

OBTAINING DNA FROM CONTACT LEVER OF GRENADE THROUGH TECHNICAL RE SUSPENSION



Martin Daniel Domínguez Cruz*

Sumario. I. Antecedentes. II. Materiales y Métodos III. Cuantificación IV. PCR Amplificación V. Resultados VI. Discusión VII. Abreviaturas VIII. Bibliografía. Fecha de recepción 23- Mayo-2014. Fecha de aceptación. 30-Junio-2014.

RESUMEN

Este artículo consiste en determinar si la con la aplicación de la técnica de re suspensión es posible obtener el perfil genético del ADN cuando se está

* Biólogo, Perito del Laboratorio de Genética Forense del Instituto Jalisciense de Ciencias Forenses.

en contacto con la palanca de una granada, considerado como único indicio útil con la finalidad de identificación certera de quien arroja el explosivo.

ABSTRACT

This article is to establish of by applying the re suspension technique is possible to obtain the DNA genetic profile when it is in contact with the lever of a Grenade, considered useful the only indicative in order to identify in accurate way who throws the explosive.

PALABRAS CLAVE

ADN, Indicio, Granada.

KEYWORDS

DNA, Clue, Grenade

I. ANTECEDENTES.

En la gran mayoría de los casos en los que se involucran las diferentes áreas forenses, los indicios aportan una gran cantidad de datos para poder determinar si un individuo tuvo contacto con esos indicios, el principio de intercambio en la mayoría de los indicios es factible, por ejemplo en el caso de las armas de fuego, al accionarlas los productos de la deflagración de la pólvora se quedan impregnados en ambas caras de las manos de la persona que la accionó y de igual manera el individuo deja sus huellas dactilares al momento de manipular el arma y es de esta forma ocurre en una gran variedad de indicios, pero ¿Qué pasa en los casos en los que donde se ven involucrados artefactos explosivos? ¿Cómo aplica el principio de intercambio en este tipo de artefactos? Un ejemplo de esto son las granadas de mano, donde la gran mayoría del artefacto se fragmenta y se dispersa en un área extensa (dependiendo del escenario) ¿Qué información le aporta al perito de explosivos?

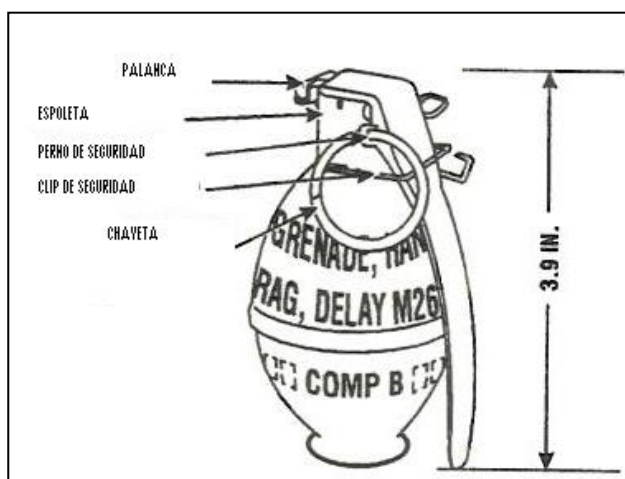
El experto en explosivos puede determinar en base a los fragmentos que encuentra, el tipo de artefacto, su origen y el espacio o ángulo en el que se

encontraba al momento de que ocurrió la detonación, las trayectorias que siguieron las esquirlas así como los efectos en cuerpos y objetos, pero no puede obtener información acerca del individuo que la accionó.

En este escenario se podría pensar que el principio de intercambio no aplica, ya que no existe productos de deflagración que se impregnen en el individuo que la acciona, puesto que al momento de la detonación la granada se encuentra a una distancia considerable del individuo y por los efectos que le ocasionaría, las huellas que pudiera dejar el individuo sobre el artefacto al momento de la detonación se pierden, por el intenso calor que se produce y la fragmentación del envase que contiene la carga explosiva del artefacto.

Bajo estas condiciones ¿Qué se puede hacer? Lo más viable sería buscar en las partes del artefacto que quedan fuera del área de la detonación, como son la chaveta y la palanca (Figura 1), pero en este tipo de indicios que información proporcionan para poder determinar si una persona accionó el artefacto explosivo, o no.

Figura 1 partes externas que conforman una granada de mano.



Una búsqueda de huellas latentes podría no ser fructífera, en base a que cuando se sujeta una granada de mano el área de la mano que está en contacto con la palanca es la correspondiente a la falangina dejando a los pulpejos donde están los dactilogramas sin contacto con esta área (Imagen2), siendo de esta forma poco probable el obtener un fragmento dactilar útil, por

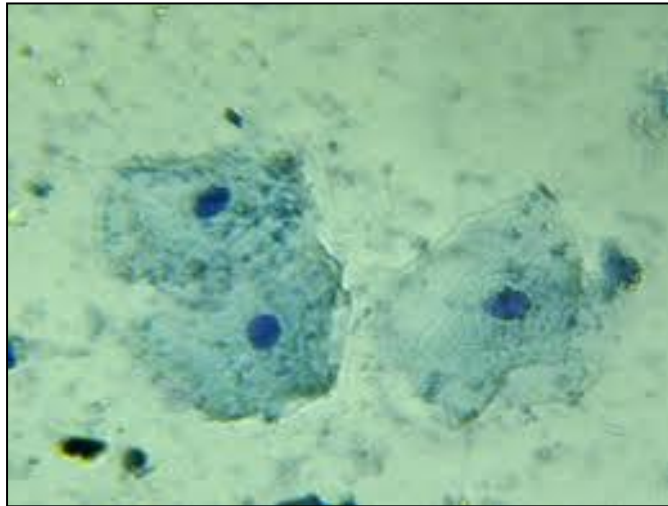
alguna de las técnicas de revelado de latentes, por otra parte la chaveta que si está en contacto con el área de los pulpejos es una superficie muy pequeña para encontrar un fragmento dactilar de utilidad, por consiguiente, se podría pensar que no existe una forma de relacionar al individuo que acciona una granada de mano, con los indicios que quedan del artefacto, pero esto no es así.

La mayoría de las células que conforman los tejidos de los organismos superiores se encuentran diferenciadas y algunas como las células del sistema nervioso (las neuronas) se encuentran en la fase G_0 del ciclo celular y por consiguiente no se dividen, pero otras como las células epiteliales están en constante regeneración, los tejidos epiteliales están formados por alguna de las tres capas germinales, la piel está formada por dos capas, la epidermis que se deriva del ectodermo y la dermis o corion que se origina del mesodermo.

La epidermis es un epitelio plano estratificado queratinizado formado por cuatro tipos distintos de células, el tipo de células que predomina son los queratinocitos que producen queratina esto origina las capas superficiales de la piel, Dichas células superficiales queratinizadas se pierden continuamente y son remplazadas por células que se están regenerando constantemente, un ser humano pierde por descamación alrededor de 400,000 células por día, todas las zonas de la piel sufren descamación, en un grado mayor las zonas de fricción, como lo son las palmas de las manos y las plantas de los pies, las células de descamación que se desprenden quedan en las diferentes prendas que usa una persona y que están el contacto con la piel, así como en su entorno inmediato.

Por consiguiente, cuando se toca la superficie de diferentes objetos se realiza una transferencia de células de descamación de la persona al objeto que toco, la cantidad de células que intervengan en la transferencia depende de diversos factores, como pueden ser, tiempo de contacto, área de contacto, sudoración de la piel, y si existe fricción de la piel con el objeto (Imagen 1).

Imagen1. Células epiteliales con tinción simple, donde se observa la membrana celular, membrana nuclear y organelos que conforman a la célula.



Las áreas de la granada que entran en contacto con la mano, son el cuerpo del explosivo y la palanca, las posibles células de descamación que se transfieren al cuerpo del explosivo se perderán al momento de la detonación, pero las que quedan en la palanca estarán intactas y aunque el área de la palanca sea reducida, la cantidad de células puede ser suficiente (esto por la excesiva sudoración del individuo momentos antes de realizar la detonación del artefacto) para obtener un perfil genético, a la técnica que se utiliza para recolectar el material genético en superficies de objetos se denomina ADN de contacto.

Imagen 2. Áreas de la mano que entran en contacto en la sujeción de una granada, los pulpejos donde se encuentran los dactilogramas, queda fuera del área de sujeción de la palanca.



Es la técnica en la que se pretende recuperar un perfil genético de un individuo que entra en contacto con la superficie de un objeto.

En Estados Unidos esta técnica se utiliza para obtener perfiles genéticos en armas de fuego y en Europa, se ha aplicado con éxito en la recolección de células de descamación en prendas de vestir (Skin Flakes), pero no existen reportes de su utilización en palancas de granadas.

Parte importante es lograr la recolección de las células de descamación sobre la superficie, pero también lo es el obtener el material genético de los núcleos de estas células, tanto el método de recolección como el de extracción que se utilicen puede marcar la diferencia en obtener un perfil genético o no.

Cuando se realiza en procedimiento de recolección del material genético por medio de hisopos se pierde cerca de 30% de las células cuando se realiza el proceso de extracción, por esta razón se planteó realizar la recolección mediante re suspensión del área de contacto con agua estéril.

II. MATERIALES Y MÉTODOS.

Se tomó una granada desactivada (donde la carga explosiva ha sido retirada), se procedió a la limpieza de toda el área de la palanca mediante el producto para degradación de material genético DNA off (promega), dejando actuar por 5 minutos, y posteriormente se realizó una segunda limpieza con etanol, para simular las condiciones de sudoración de la mano de un individuo, al manejar un artefacto momentos antes de accionarla, se colocó una bolsa de plástico translucido alrededor de la mano de un sujeto por 2 minutos, retirándola, terminado este lapso de tiempo y procediendo a sujetar la granada en la posición para accionarla por 1 minuto (se repitió en mismo procedimiento por dos tiempos diferentes adicionales 30 segundos y 2 minutos) colocando la granada en una área estéril, para realizar el procedimiento de recolección por re suspensión, se realizaron dos tiempos para la recolección, una se realizó 30 minutos después de la sujeción del artefacto y otra 2 horas después de la sujeción, se realizó la re suspensión utilizando 600µl de agua estéril, posteriormente se realizó el método de extracción mediante el kit DNA IQ

Casework Pro Kit, proteinasa K y Dithiothreitol, se incubaron a 56°C, y se realizó la purificación del ADN, por medio de Resina magnética, de forma automatizada (promega maxwell forensic 16).

Adicionalmente y con 24 hrs del proceso de extracción del artefacto (para evitar contaminación cruzada) se realizó la obtención del material genético del sujeto de prueba para obtener su perfil genético y confrontarlo con el genotipo que se obtuviera del artefacto explosivo, este se realizó mediante un hisopo bucal.

III. CUANTIFICACIÓN

El procedimiento de cuantificación se realizó mediante PCR-RT con el equipo, siguiendo el protocolo establecido para los reactivos Plexor HY System.

IV. PCR AMPLIFICACIÓN.

Se utilizó el kit Power Plex 16 HS (promega DC2101), un termociclador 9700, el Análisis de los STRs se realizó mediante un analizador genético.

RESULTADOS.

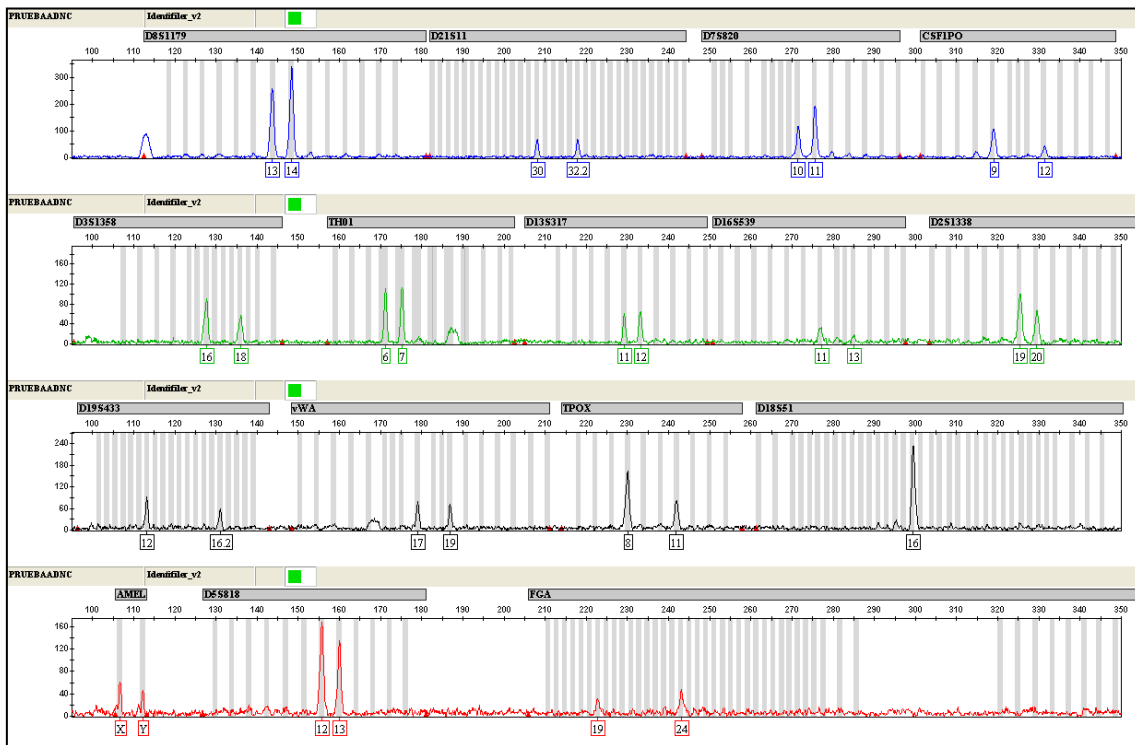
Para ambos tiempos de sujeción de la granada se obtuvieron los perfiles genéticos, en el tiempo de 30 segundos se obtuvo el genotipo con RFUs de menores a 100 y disminución de un alelo del marcador D16S539 a menos de 40 RFUs.

Para el tiempo de 1 y 2 minutos se obtuvieron los perfiles genéticos completos con RFUs de 100 o cercanos (Imagen 3). No hubo diferencia en el tamaño de los RFUs entre el tiempo de reposo para el procedimiento de extracción de 30 minutos y 2 horas.

La cuantificación del ADN del tiempo de sujeción de 30 segundos fue de .211ng/µl y la del tiempo de 1 y 2 minutos fue de .528ng/µl.

La confrontación del genotipo obtenido de la palanca de la granada con la del sujeto de prueba fue positiva totalmente concordando satisfactoriamente todos de alelos de cada marcador molecular.

Imagen 3. Resultados obtenidos de los tiempos de sujeción de 1 y 2 minutos.



V. DISCUSIÓN

El tiempo de sujeción de la palanca de granada, es importante para la cantidad de material genético transferido al objeto que se sujeta, entre más tiempo dure el contacto de la mano con el objeto se incrementa la posibilidad de obtener un perfil genético completo con RFUs mayor, se observa que la cantidad de ADN se incrementa de .211ng/ μ l - .528ng/ μ l relacionado con el tiempo de sujeción.

El intervalo de tiempo que pasa en que se realiza la sujeción del objeto y la realización del procedimiento de extracción del objeto no presenta una diferencia en la cantidad de ADN que se obtiene, esto en condiciones de laboratorio, en condiciones reales se debe de tener en cuenta las condiciones ambientales y el tipo de superficie donde se encuentre la palanca, tomando en cuenta los inhibidores que se puedan encontrar en las diferentes superficies, esto puede crear una diferencia, aunque se observó que la utilización del kit Power Plex 16 HS (promega DC2101), inhibe este tipo de contaminantes.

La cantidad de ADN obtenido en los dos períodos de tiempo de sujeción de 30 segundos y 2 minutos, es suficiente para obtener los perfiles genéticos aunque se observa una disminución en los RFUs y disminución a menos de 20 de un marcador en el que tuvo menos tiempo de contacto.

Es importante en la realización de la extracción por re suspensión tener las condiciones idóneas de esterilidad para evitar contaminaciones por las mínimas cantidades de ADN que se obtendrán por esta técnica.

Es posible obtener el perfil genético mediante ADN de contacto de una superficie pequeña como lo es la palanca de una granada, mediante la técnica de re suspensión, sin la pérdida de material que se reporta con el uso de hisopos, proporcionando de esta manera una poderosa herramienta para lograr la obtención de perfiles genéticos y la posibilidad de identificación certera de quien arroja el artefacto explosivo. Creando de esta forma la única posibilidad de relacionar a un individuo, que se tiene la presunción de haber sido el actor material donde interviene la detonación de un artefacto explosivo, con el único indicio útil (palanca de granada) con fines de identificación.

VI. ABREVIATURAS:

RFU.- Unidad de Fluorescencia Relativa.

ng.- Nano gramos.

µl .- Micro litros

VII. BIBLIOGRAFÍA

- A. Barbaro, P. Cormaci. LCN DNA typing from touched objects. International Congress Series 1288. 2006: 553 – 555.
- L. Saravo, S. Spitaleri, D. Piscitello, S. Travali. DNA typing from steel cable. International Congress Series 1261. 2004: 473 – 475.
- R.A.H. Van Oorschot, D.G. Phelan, S. Furlong, G.M. Scarfo, N.L. Holding, M.J. Cummins. Are you collecting all the available DNA from touched objects. International Congress Series 1239. 2003: 803 – 807.
- R.A.H. Van Oorschot, Kaye N. Ballantyne, R. John Mitchell. Forensic trace DNA: a review. Investigative Genetics. 2010: 1-14.
- Williamson AL. Touch DNA: Forensic Collection and Application to Investigations. J Assoc Crime Scene Reconstr. 2012:18(1);1-5.