



Universitat
de les Illes Balears

TRABAJO FIN DE GRADO

¿QUÉ Y CUÁNTA INFORMACIÓN GENÉTICA NUESTRA DEJAMOS CUANDO TOCAMOS LAS COSAS?

Étienne Fullana Martínez

Grado de Bioquímica

Facultad de Ciencias

Año Académico 2020-21

¿QUÉ Y CUÁNTA INFORMACIÓN GENÉTICA NUESTRA DEJAMOS CUANDO TOCAMOS LAS COSAS?

Étienne Fullana Martínez

Trabajo de Fin de Grado

Facultad de Ciencias

Universidad de las Illes Balears

Año Académico 2020-21

Palabras clave del trabajo:

ADN, Transferencia, Contacto

Nombre Tutor/Tutora del Trabajo Joana Francesca Ferragut Simonet

Nombre Tutor/Tutora (si procede)

Se autoriza la Universidad a incluir este trabajo en el Repositorio Institucional para su consulta en acceso abierto y difusión en línea, con fines exclusivamente académicos y de investigación

Autor		Tutor	
Sí	No	Sí	No
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Índice

Resumen.....	6
Introducción.....	6
Objetivo	7
Materiales y métodos.....	7
Palabras clave, buscadores y resultados	7
Selección y tratamiento de los artículos.....	7
Resultados	8
Origen del ADN transferido	8
Factores que afectan a la transferencia	9
La persona	9
Modo de contacto	13
Material y tipo de muestra.....	14
Edad	16
Lavado de ropa	18
Persistencia del ADN transferido	19
Tiempo y condiciones ambientales	20
Persistencia del ADN en las uñas	20
Persistencia del ADN en la saliva	23
Transferencia secundaria de ADN.....	24
Discusión	25
Conclusión.....	27
Bibliografía.....	28

Resumen

El descubrimiento de que el ADN podía ser transferido mediante el tacto a prácticamente cualquier superficie cambió el modo de proceder de la comunidad forense internacional. Este hallazgo, junto con la mejora de la tecnología, ha permitido que a partir de cantidades cada vez más pequeñas de material genético, sea posible obtener perfiles genéticos que permitan identificar exitosamente a las personas responsables de actos criminales. No obstante, hay muchos factores que intervienen en la transferencia, los cuales determinan la cantidad y calidad del ADN depositado. En este trabajo se ha puesto de manifiesto que los hombres jóvenes, en especial los niños, tenderían a depositar más ADN que el resto de la población. También, que catalogar a una persona en uno de los 3 estados de transmisión (bueno, intermedio, malo) podría ser más complicado de lo que se pensó en un primer momento. Por otro lado, las superficies lisas como el cristal serían mejores recipientes de material genético que otros, como la madera. Además, si la muestra que contiene el material genético se encuentra en estado líquido (sangre, saliva o semen) en el momento de la transferencia, más ADN podrá ser transferido que cuando las muestras se sequen; esto permite que la transferencia durante la colada sea posible, y constituye una fuente de transferencia secundaria. Finalmente, aunque el ADN es capaz de persistir por largos periodos de tiempo en la intemperie, la humedad así como los ambientes secos pueden favorecer la aparición de daños irreparables en la molécula, dificultando la labor de perfilado genético.

Abstract

The discovery that DNA could be transferred through contact almost to every surface changed the procedures of the international forensic community. This finding, along with the improvement of technology, has allowed us to generate profiles from smaller quantities of genetic material that enable to identify successfully those responsible for criminal acts. Nevertheless, there are many factors that intervene within transfer and determine not only the quantity, but the quality of the deposited DNA. Through this work it has been revealed that young men, specially kids, tend to deposit more DNA than the rest of the population. Also, to catalog a person within one of the 3 shedding status (good, medium, bad) could be more complicated than what it was thought at the beginning. On the other hand, smooth surfaces such as glass would be better genetic material recipients than others, as wood. Moreover, if the sample containing the genetic material is liquid (blood, saliva or semen) when the transfer occurs, more DNA could be transferred than when sample is dried – this allows transfer to occur during laundry, which represents a source for secondary transfer. Finally, environmental humidity and dryness can trigger the presence of irreversible damages on the molecule, hindering the genetic profiling.

Introducción

El ADN puede ser transferido a un objeto de varias maneras. Una de ellas es mediante el contacto físico, que da lugar a lo que hoy en día se conoce como ADN de contacto (*Touch DNA* en inglés) [1]. Este término hace referencia a la transferencia de diminutas cantidades de ADN mediante células de la piel cuando un objeto es tocado o usado [2]. En 1997 un artículo publicado por los investigadores van Oorschot y Jones [3] puso sobre la mesa de la comunidad forense la posibilidad de recuperar muestras de ADN a partir de células epiteliales obtenidas de objetos usados. Esto aumentó las probabilidades de usar las pruebas de ADN en diferentes casos, entre los que se incluyen las violaciones y homicidios, donde la recuperación de ADN nunca se había intentado [4].

El ADN de contacto o ADN vestigial (*trace DNA*) se ha convertido en un área de interés durante las dos últimas décadas debido a su importancia en aquellos casos en los que otro tipo de pruebas forenses no están disponibles. Además, representa una de las muestras más desafiantes puesto que, cuando se encuentra en la escena de un crimen, lo hace en poca cantidad y, normalmente, los perfiles genéticos que se pueden obtener suelen estar formados a partir de diferentes personas [5]–[7]. En algunos casos, el ADN de contacto puede dejar una cantidad de material genómico de calidad suficiente como para producir un perfil de ADN que permita identificar a la persona que lo depositó [1]. Sin embargo, diversas variables afectan a esta deposición de material genético, como la capacidad de transmisión [8], la superficie [9], el lavado de manos [10], la edad de la persona [11] o la presión de contacto [12], entre otros.

El fenómeno por el cual el ADN de un individuo es depositado en otras personas u objetos recibe el nombre de “transferencia de ADN”, y existen diferentes tipos: primaria o directa y secundaria o indirecta [13]. La transferencia primaria tiene lugar tras un contacto directo del objeto con la piel y/o fluidos biológicos de un individuo, o a través de la deposición directa de un fluido biológico en el objeto sin ni siquiera ser tocado [14]. La segunda es parecida, con la salvedad de que participa un intermediario vivo o inanimado para la transferencia [15]. Por ejemplo: la persona A toca el objeto A; luego la persona B toca el objeto A. El ADN de la persona A ahora estaría en las manos de la persona B, a pesar de que ambos individuos jamás han entrado en contacto físico [16]. Las transferencias pueden ser más o menos duraderas, y la cantidad de ADN encontrado en el aceptor final del ADN no es determinante para saber qué tipo de transferencia se ha producido. Hasta hace poco se pensaba que el hecho de encontrar una gran cantidad de ADN indicaba sin lugar a dudas una transferencia primaria; no obstante, expertos en el tema no están de acuerdo con esta afirmación, ya que se ha podido demostrar, en ciertos procesos judiciales, que una transferencia secundaria es capaz de transmitir una cantidad considerable de material genético [17].

En el presente Trabajo de Fin de Grado (TFG) se entenderá por “contacto” no solo el tacto físico en el que interviene la piel, sino también aquel que haya tenido lugar mediante fluidos corporales, como la saliva, la sangre y el semen.

Objetivo

El objetivo del presente TFG es profundizar en los mecanismos por los cuales el ADN es transferido de persona a persona y a objetos, y poner de manifiesto los diferentes elementos que intervienen y afectan a dicha transferencia.

Materiales y métodos

Palabras clave, buscadores y resultados

Para la realización de este TFG se realizaron tres búsquedas independientes de artículos científicos. La selección de las palabras clave tuvo en cuenta la temática del propio trabajo. Dado que el tema es la “transferencia de material genético”, la primera búsqueda se realizó con el término “*Transfer DNA*”. Para la siguiente búsqueda se planteó la pregunta: “¿qué tipo de transferencia estoy estudiando?” El título del trabajo ya responde a esta pregunta. Debido a esto, la siguiente búsqueda se basó en el término “*Touch DNA*”. Finalmente, el último término se consiguió teniendo en cuenta el tipo de ADN que se busca. Debido al enfoque forense del trabajo, se asumió que el material genético era aquel dejado en la escena de un crimen, como “restos”. Por tanto, el último término fue “*Trace DNA*”.

Los buscadores empleados fueron dos: *ScienceDirect* y *Pubmed*. De todas las búsquedas, solo una dio un número de artículos manejable (los resultados se muestran a continuación, sin filtros). En *ScienceDirect* y por orden: 611,115, 24,585 y 165,939. En *Pubmed* y por orden: 73,375, 845 y 9,174. Debido a esto, en las búsquedas de *ScienceDirect* se seleccionó la opción de mostrar solo aquellos resultados procedentes de la revista académica “Forensic Science International” con el objetivo de canalizar los resultados hacia el tema del trabajo. En el caso de *Pubmed* esto no fue posible debido a las propias opciones de búsqueda disponibles, por lo que se optó por añadir al final de cada búsqueda las palabras “Forensic Science International”, con el objetivo de intentar conciliar las búsquedas. Con los filtros aplicados, los resultados en *ScienceDirect* fueron los siguientes (por orden): 1200, 352 y 1527. En *Pubmed*, y por orden: 130, 97 y 247. En las búsquedas no se aplicaron filtros con respecto a las fechas de publicaciones, ya que era de interés ver como la mejora de las tecnologías han permitido la obtención de mejores resultados a lo largo de los años transcurridos. Con los números obtenidos tras las búsquedas filtradas, ya fue posible comenzar la selección de artículos para la realización del trabajo.

Selección y tratamiento de los artículos

La selección de los artículos se basó en su relación directa con el tema del trabajo aquí presentado. Para tal fin, se leyeron los títulos y *abstracts* de los artículos. Por ejemplo, muchos artículos encontrados como resultado de las búsquedas versaban sobre enfermedades

hereditarias o transferencia de ADN entre bacterias, entre otras cosas. Artículos de esa índole y similares fueron rechazados. De esta manera se consiguió llevar a cabo una selección previa de los artículos que estaban directamente relacionados con el trabajo antes de pasarlos a un documento de Excel para su posterior tratamiento. Llevando a cabo este procedimiento, se obtuvieron los siguientes datos. De los resultados de *ScienceDirect*, por orden: 110, 84 y 27. De los resultados de *Pubmed*, por orden: 94, 30 y 16.

Cuando ya se hubieron seleccionado aquellos artículos con información relevante para el desarrollo del trabajo, sus títulos fueron transcritos en una hoja de cálculo (Excel), con el objetivo de ordenarlos por búsqueda, buscador y alfabéticamente. Todo esto con el objetivo de hallar duplicidades. De esta manera, se obtuvo que del total de artículos seleccionados (361), el 21% correspondía a artículos duplicados. En la primera búsqueda, *Transfer DNA* (110 y 94), hubo un total de 50 artículos repetidos (todos procedentes de *Pubmed*; dado que la primera búsqueda se realizó con *ScienceDirect*, muchos de los artículos encontrados en *Pubmed* ya habían sido seleccionados en el otro buscador). En la segunda búsqueda, *Touch DNA* (84 y 30) hubo 22 artículos repetidos. En la tercera búsqueda, *Trace DNA* (27 y 16) hubo 4 artículos repetidos.

Los artículos duplicados fueron eliminados, de manera que el número real de artículos era de 285. De esta manera, los números quedan así. *ScienceDirect* (por orden): 110, 71 y 25. *Pubmed* (por orden): 44, 21 y 14. (Tabla 1).

En aquellos casos en los que sea necesario, se hará uso de artículos que no fueron encontrados durante el proceso de búsqueda y selección; por ejemplo, para constatar referencias que han sido citadas en los artículos seleccionados.

Tabla 1. Resultados de las búsquedas bibliográficas. Se muestra el número de artículos encontrados en cada caso, tanto en *ScienceDirect* (verde) como en *Pubmed* (azul).

Transfer DNA		Touch DNA		Trace DNA	
611	115	73.375	24.585	845	165.939
Aplicación del filtro "Forensic Science International"					
1200	130	352	97	1527	247
Selección de artículos relacionados con el trabajo					
110	94	84	30	27	16
Eliminación de duplicidades (76 en total)					
110	44	50	repetidos)	71	21
			22	repetidos)	25
				4	repetidos)

Resultados

Origen del ADN transferido

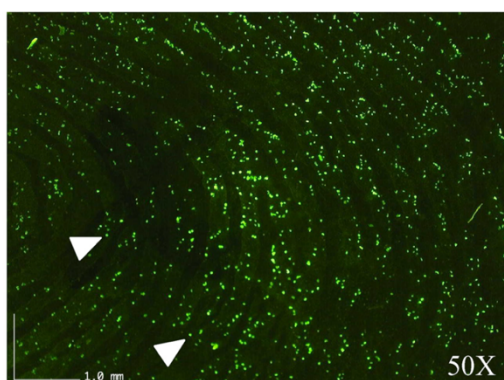


Figura 1. ADN resaltado en huella dactilar depositada en una lámina de vidrio. Empleando la tinción *Diamond Dye* y la microscopía de fluorescencia, se puede visualizar el ADN (tanto celular como libre de células). Se observan, también, los surcos propios de la huella. Las cabezas de flecha señalan células. [29]

En 1997 el artículo publicado en la revista *Nature*, realizado por van Oorschot y Jones [3] puso de manifiesto la posibilidad de detectar ADN a partir de materiales biológicos dejados en una superficie tras entrar en contacto con las manos (y cualquier área de la piel en general). En la figura 1 se puede apreciar la deposición de material genético mediante el contacto con la yema de los dedos.

Al principio la hipótesis aceptada era que el ADN recuperado de materiales biológicos procedía directamente de las células epiteliales desprendidas desde la parte más superficial de la piel [13;18-19]. Wickenheiser [6] defendió en su artículo que el ADN obtenido de las superficies tocadas procede del núcleo de las células epiteliales desprendidas. Estudios morfológicos de las superficies tocadas dieron como resultado corneocitos con núcleo, corneocitos sin núcleo y núcleos sueltos [18;20]. Los corneocitos son las células que forman la capa externa de la piel, y proceden de los queratinocitos. Según sus

conclusiones, las células nucleadas y/o los núcleos sueltos tenían capacidad suficiente como para generar perfiles genéticos.

No obstante, investigaciones recientes indican que cuando los queratinocitos alcanzan la capa externa de la piel, su núcleo se ha desintegrado y la cromatina se ha condensado de tal manera que se deja poco o ningún ADN para generar perfiles genéticos mediante STR [21-22].

Los STR (*Short Tandem Repeats* en inglés) son regiones de ADN constituidas por entre 100 y 500 nucleótidos, formados por unidades de 4-5 nucleótidos que se repiten en tándem “n” veces. Los perfiles genéticos, por otro lado, consisten en patrones de fragmentos de ADN (STR) que pueden estar formados por el material genético de una sola persona (que sería el único contribuyente) o de varias personas (varios contribuyentes, uno de los cuales puede ser el principal, es decir, el que ha depositado mas cantidad de ADN o de mejor calidad).

Kita y col. [21] informaron de la presencia de ADN monocatenario libre de células (CNAs por sus siglas en inglés) en la capa más externa de la piel, probablemente transportado por secreciones como el sudor y el sebo [23]. Además, ese ADN tendería a estar degradado [19], probablemente debido a la acción de la desoxirribonucleasa durante la migración de los queratinocitos hacia la capa externa de la epidermis [24]. Otras investigaciones apuntan a que fuentes ricas en ADN, como la saliva, acabarían en las manos desde otras partes del cuerpo y serían depositadas por estas [22].

En esa misma línea, Van den Berge y col. [25] hicieron estudios de cuantificación de ADN con muestras epiteliales, teniendo en cuenta la presencia, o no, de sudor o sebo. Los resultados se indican a continuación. Sin sebo: 0.1 ng – 2.4 ng. Con sebo: 0.7 ng – 19.9 ng. Sin sudor: 0.1 ng – 10.8 ng. Con sudor: 0.1 ng – 191.8 ng. En el 72% de las comparaciones realizadas en las muestras con y sin sudor, las “con” dieron más ADN que las “sin”.

Factores que afectan a la transferencia

La persona

El estudio de 1997 de van Oorschot y Jones [3] apuntó que la cantidad de ADN depositada al contacto con las manos dependía, en gran medida, de la persona. Esto ha sido confirmado en numerosas ocasiones gracias a experimentos realizados posteriormente, en los que se ha podido observar que existe variación en la propensión de los individuos a depositar su ADN [8;10-11;14;22;26;28;30-31].

Alketbi [1] define el estado de transmisión como la habilidad de las personas para transferir su material genético, mediante el tacto, a objetos y a personas. En este contexto, Lowe y col. [8] y Wickenheiser [6] sugieren que existen tanto buenos como malos transmisores. Lowe y col. [8] describieron que los buenos transmisores son aquellas personas que tienen gran facilidad para desprender células de la piel. En su estudio, observaron el número medio de alelos que dejaban cada uno de los voluntarios (n=30) a los 15 minutos después de lavarse las manos y sostener un tubo estéril de plástico durante 10 segundos. Lo hicieron a los 15 minutos porque observaron, con 8 voluntarios previos, que a ese intervalo de tiempo era cuando se apreciaban las mayores diferencias en el ADN depositado entre los diferentes voluntarios (a los 15 minutos después del lavado se podía diferenciar mejor entre buenos y malos transmisores). De esta manera, 18 de las 30 personas depositaron entre el 80% y el 100% de su perfil genético. A estos les denominaron “buenos transmisores”; al resto, los catalogaron como “malos transmisores”.

Por otro lado, de los 8 voluntarios previos 3 fueron catalogados como malos transmisores. Con ellos estudiaron la deposición de ADN a 4 tiempos diferentes después de lavarse las manos: 0 minutos, 15 minutos, 1 hora y 6 horas. Los malos transmisores solo fueron capaces de depositar perfiles completos de ADN (como los buenos transmisores hacían a los 15 minutos), a las 6 horas y solo cuando los investigadores utilizaron 34 ciclos de amplificación de PCR (cuando en el resto de pruebas habían usado 28 ciclos). Con estos datos, Lowe y col. [8] sugirieron que el lavado de manos podría ser importante de cara a la transferencia, y con sus observaciones estipularon que era probable que conforme pasaba el tiempo desde el lavado de manos, más alelos se acumulaban en las mismas. Algo que fue demostrado posteriormente por Stanciu y col.

[26] que observaron que se depositaba más ADN a través de manos sin lavar que a partir de manos lavadas (4,646 ng y 0,242 ng, respectivamente) en un tubo limpio sujetado durante 5 minutos.

Los datos obtenidos en el experimento de Lowe y col. [8] fueron recreados por Djuric y col. [27]. En su experimento intervinieron 7 voluntarios que sujetaron durante 10 segundos tubos de plástico estériles, un cuarto de hora después de haberse lavado las manos. En este caso, 3 de los 7 dieron perfiles completos (buenos transmisores según la definición de Lowe y col. [8] y 4 dieron perfiles parciales.

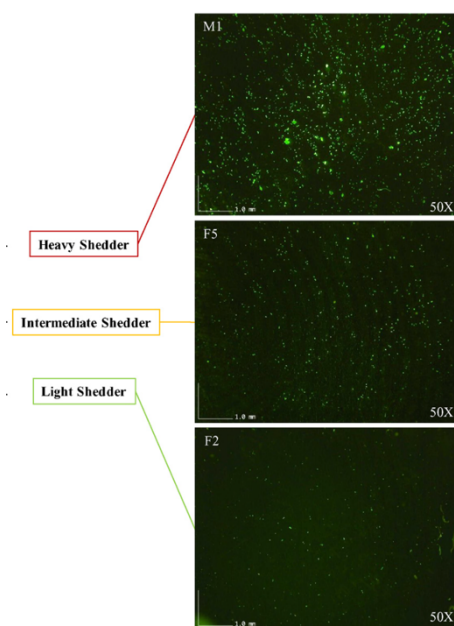


Figura 2. Deposición de ADN en función del estado de transmisión. Empleando la tinción *Diamond Dye* y la microscopía de fluorescencia puede apreciarse el ADN depositado en láminas de vidrio. En orden: transmisor bueno (rojo), transmisor intermedio (amarillo), transmisor malo (verde) [29].

En la misma línea que los anteriores, Fonnelløp y col. [28] desarrollaron una prueba simple para diferenciar a los buenos de los malos transmisores. En su experimento, 20 voluntarios (5 hombres y 15 mujeres), sujetaron tubos cónicos de plástico estériles durante 10 segundos, tres veces separadas (n=60). Ellos establecieron que los buenos transmisores serían aquellos que en al menos 2 muestras hubiesen depositado una cantidad de ADN por encima de la media (0.64 nanogramos) de todos los participantes, y que al menos dos de los perfiles generados debían ser de buena calidad (24 o más alelos, con 17 alelos de media). Con estos parámetros, 5 voluntarios (3 hombres y 2 mujeres) fueron catalogados como buenos transmisores. En este experimento, los hombres fueron mejores transmisores.

Por otro lado, el experimento de Goray y col. [22] parece indicar que existe una tercera categoría en la que podría incluirse al grueso de la población. En su estudio, en el que 10 personas colocaron sus manos en placas de vidrio esterilizadas durante 10 segundos, solo obtuvieron dos personas que fueron buenas transmisoras (2 hombres) y otras dos que fueron malas transmisoras (2 mujeres). Kanokwongnuwut y col. [29], que hicieron que 11 voluntarios depositaran huellas dactilares con sus pulgares en láminas de vidrio libres de ADN, hallaron que 5 de los voluntarios (3 hombres y 2 mujeres) caían en el rango de transmisores intermedios (Figura 2).

Igual que Goray y col [22], los hombres fueron los mejores transmisores, y en su caso, de las 11 personas, 4 mujeres fueron malas transmisoras. De esta manera, ambos estudios parecen sugerir que los hombres tenderían a ser mejores transmisores que las mujeres, a diferencia de lo propuesto por Lowe y col. [8] que no apreciaron esta diferencia entre sexos. En ninguno de estos experimentos observaron diferencias de deposición entre las manos dominante y no dominante. Además, en el experimento de Goray y col. [22] no apreciaron, tampoco, el efecto del lavado de manos en la deposición de ADN, ni en aquellos individuos que se habían lavado las manos menos de una hora antes de la deposición (64 de 240), ni en aquellos que se las habían lavado más de una hora antes.

Hasta ahora, los datos parecen indicar que una persona es una transmisoras buena, mala o intermedia de manera innata. Sin embargo, investigaciones recientes [10-11;22;29] apuntan a que estas categorías no serían herméticas entre sí, y que un mismo individuo podría fluctuar entre ellas dependiendo de varios factores, como los que se verán a continuación.

Por ejemplo, Phipps y Petricevic [10] no encontraron buenos transmisores en su grupo de voluntarios (n=60), entendiendo por buen transmisor aquella persona que deposita perfiles

completos de ADN con ambas manos. Su experimento comprendió 3 partes. La primera estudió el estado de transmisión con 5 personas (3 mujeres + 2 hombres) a lo largo de 4 días separados. Lo que hicieron fue sujetar tubos de plástico estériles durante 10 segundos. Observaron que ninguno de los voluntarios depositaba ADN de manera consistente.

La segunda parte del experimento, en la que participaron las 5 personas anteriores, tuvo en cuenta el lavado de manos (agua + jabón) y estudió las diferencias de deposición entre ambas manos en una misma persona. Sin lavado de manos, la media de alelos depositados por la mano dominante fue de 10.9, mientras que la de la mano no dominante fue de 1.5. Cuando las manos se lavaron, la mano no dominante depositó, de media, 2.9 alelos y la dominante, 1.4. Con esto establecieron varias conclusiones. La primera es que las personas, de manera normal, tienden a depositar más ADN con la mano dominante, pero que el lavado de manos podría hacer que fuera la no dominante la que depositara más material genético. Que la mano dominante deposite más ADN no les parecía extraño. Ellos [10] sugirieron que esto podría explicarse porque las personas tienden a tocar más objetos con dicha mano (barandillas, teléfonos, picaportes), lo que implica un mayor contacto con las células escamosas de la piel, así como con secreciones corporales (sudor y sebo) que resulta, por tanto, en una deposición más prolongada del material genético [6]. Además, las manos también tocan y rascan la nariz, la frente, los ojos, el pelo, etc. Wickenheiser y col. [6] bautizaron este proceso como "impregnación" de los dedos con ADN, ya que se llenan de sudor y sebo, lo que les permite tener grandes cantidades de ADN propio. En la misma línea, el experimento de Szkuta y col. [31] en el que parejas de voluntarios se dieron la mano y luego la colocaron en placas de cristal, sugirió que la transferencia mejoraba cuando en el apretón de manos intervenían los dedos, una de las zonas del cuerpo en la que se encuentran las glándulas sebáceas. Sin embargo, ellos [31] no observaron diferencias entre aquellas personas que se habían lavado las manos, y las que no (n=24), y en su experimento el tiempo desde el lavado de manos fue desde los 5 minutos hasta las 6 horas.

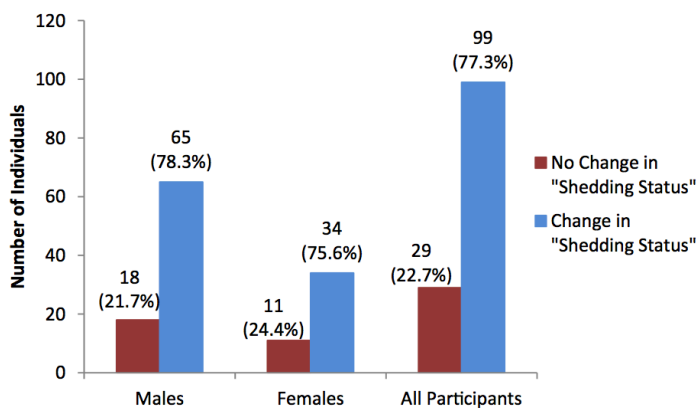


Figura 3. Cambio en el estado de transmisión. Atendiendo a diferentes variables (higiene de manos, uso de mano dominante o no dominante, guantes) un mismo individuo puede depositar diferentes cantidades de ADN [14].

Por otro lado, el estudio de Panayiotis y col. [14] demostró justamente lo contrario: la mano no dominante transmite más ADN. Es posible que estas diferencias se deban a métodos experimentales diferentes o incluso a razones étnicas relativas a los voluntarios y que en ninguno de los estudios se tuvieron en cuenta [14]. Sin embargo, ambos estudios coinciden en que un mismo individuo puede depositar diferentes cantidades de ADN, y que por tanto es complicado catalogar a una persona como buena, intermedia o mala transmisora (Figura 3).

Poetsch y col. [11] y Linacre y col. [30] también respaldan esta conclusión. De manera similar, Goray y col. [22] coinciden en que es difícil catalogar a una persona en una sola categoría. Ellos [22] destacan los siguientes factores que pueden influir en la mayor o menor deposición de ADN:

- actividad física (la deposición aumenta con el sudor y sebo)
- emociones (la deposición aumenta con el estrés)
- estado fisiológico (aumentan las secreciones de ADN en personas con cáncer)
- hábitos particulares (p.e: uso de guantes o cremas hidratantes)

En su estudio [22], las personas que usaron guantes en las 4 horas previas a la deposición de la muestra dejaron menos ADN que el resto. Los investigadores creen que esto puede deberse a que parte del ADN se quedara en la parte interior del guante, de manera que menos material genético estaría disponible en las manos para la deposición, o que las personas, al quitarse los guantes, se lavaron las manos poco antes de la deposición, lo cual podría explicar esa bajada en la cantidad de ADN. En el experimento de Fonnelløp y col. [28], las personas que utilizaron guantes también dejaron menos cantidad de ADN. De media, los 20 participantes depositaron 0,64 nanogramos, mientras que las personas que usaron guantes dejaron 0,19 nanogramos [28]. Por otro lado, Goray y col. [22] comentan en su artículo que las personas que depositan mayores cantidades de ADN suelen tener las manos secas, en comparación con las demás. Se teoriza que al estar seca, la piel es más sensible a la rotura y, por tanto, al desprendimiento de células epiteliales que podría conducir a un aumento del ADN depositado [32].

Retomemos ahora la última parte del experimento de Phipps y Petricevic [10], en la que participaron 60 personas, que se lavaron las manos 15 minutos antes de la deposición de la muestra en tubos de plástico con ambas manos (un tubo para cada mano). Ninguno de ellos pudo ser considerado como buen transmisor, algo que les sorprendió teniendo en cuenta que los parámetros empleados fueron similares a los del experimento de Lowe y col. [8]. No obstante, los diferentes resultados entre ambos experimentos pueden deberse a varias cosas, como el método de extracción de ADN empleado, que en el caso de Phipps y Petricevic consistió en una solución orgánica de fenol/cloroformo mientras que Lowe y col. emplearon el kit Qiagen QIAamp, en el cual el ADN se une específicamente a una membrana de silica-gel [10;35]. Por otro lado, Lowe y col. [8] realizaron frotis en los tubos antes del experimento, cosa que Phipps y Petricevic [10] no y que podría haber humedecido la superficie para permitir una mejor transferencia. Finalmente, Phipps y Petricevic utilizaron 28 + 6 ciclos en la PCR, frente a los 34 ciclos de Lowe y col. No obstante, estas diferencias no son suficientes como para explicar la diferencia de resultados, según la propia explicación de los autores [10]. A pesar de que sus datos no respaldan del todo aquellos obtenidos por Lowe y col., Phipps y Petricevic sí observaron diferencias en la deposición de los individuos, confirmando que la deposición varía entre diferentes personas.

Debido a la inexistencia de buenos transmisores entre su grupo de voluntarios de 60 personas, Phipps y Petricevic [10] argumentaron que su existencia podría ser hipotética, y que si existieran, su porcentaje sería muy reducido entre la población mundial [10]. Esto entra en conflicto con las estimaciones porcentuales desarrolladas por otros autores. Warshauer y col. [34], por ejemplo, en cuyo artículo de investigación sugieren que, debido a que la saliva tiene una gran capacidad para la transferencia y, según ellos, es más importante que el propio estado de transmisión a la hora de depositar ADN, todos los individuos deberían ser considerados como buenos transmisores. Otros autores, como Daly y col. [9], establecen que se podría asumir que el 22% de la población sería buena transmisora. Fonnelløp y col. [28] sugieren que el 25% de los individuos son buenos transmisores, frente al 65% que serían malos transmisores. De todos ellos, solo Allen y col. [35] acepta la presencia de una tercera categoría: los transmisores intermedios. En sus conclusiones establecen que, tanto buenos como intermedios, podrían depositar una huella dactilar a partir de la cual se podría obtener un perfil completo de ADN. Según ellos, esto sería aplicable para el 80% de la población mundial (18.6% buenos transmisores + 60.5% transmisores intermedios).

Por otro lado, pueden existir otras fuentes de ADN en la mano, como la saliva. No es raro que alguien se humedezca los dedos al pasar de página mientras lee o que tenga un bolígrafo en la boca mientras estudia. La saliva constituye una buena fuente de células epiteliales, y por tanto podría ser de mucha relevancia en la transferencia de material genético. En el experimento de Warshauer y col. [34], investigaron esta posibilidad con 4 individuos (dos mujeres y dos hombres), y llegaron a la conclusión de que al ser una muestra húmeda se transfiere con más facilidad que muestras secas, sobretodo si la superficie sobre la que se deposita es lisa no porosa (como el plástico de los bolígrafos o la tela de los guantes). En su estudio, todas las muestras de transferencia primaria (en la que los voluntarios tuvieron que chupar sus pulgares o bolígrafos) dieron perfiles completos.

Además, no solo las manos son relevantes para la transferencia. Enfermedades de la piel, como la psoriasis o la dermatitis, pueden aumentar la proliferación de las células epiteliales, con lo que podrían incrementar también la cantidad de ADN depositado [36].

Como ha podido observarse, no existe consenso en la comunidad forense con respecto al estado de transmisión [15]. La existencia de los transmisores consistentes sigue en tela de juicio. Además, también se ha propuesto que más que la habilidad de cada persona para transmitir ADN, otros factores como el momento del día y las actividades realizadas antes de la deposición de la muestra podrían influir en la cantidad de material que puede ser recogido [10].

En algunos apartados de este trabajo se hablará sobre el estado de transmisión de las personas considerando que existen personas que son buenas, malas o medias transmisoras de manera consistente en el tiempo. Eso no implica que esta sea la teoría aceptada actualmente, pero algunos de los artículos que han sido utilizados para el desarrollo del resto de apartados de este trabajo hacen uso del estado de transmisión para justificar algunos de sus resultados o conclusiones.

Modo de contacto

La mayor parte del ADN se transfiere durante los primeros segundos del contacto [3;13;37]. Van Oorschot y Jones [3] lo descubrieron al analizar frotis de tubos de polipropileno sujetos durante 5 segundos, 30 segundos, 3 minutos y 10 minutos y no observar diferencias significativas en la cantidad de ADN recuperado. Posteriormente, Fonnelløp y col. [37], obtuvieron resultados similares al tocar durante 10 segundos picaportes de metal.

La forma en la que este contacto se realiza determinará cuánto material genético se transfiere. Por ejemplo, Tobias y col. [12] observaron que cuando se toca un objeto con la yema de los dedos, si se aumenta la presión, se deposita más ADN, tanto propio como exógeno, independientemente del estado de transmisión del voluntario (malo, intermedio o bueno). Si además de presión se produce fricción, la cantidad de ADN depositada aumenta con respecto a aquellas situaciones en las que el contacto es pasivo, o con presión pero sin fricción [38-39].

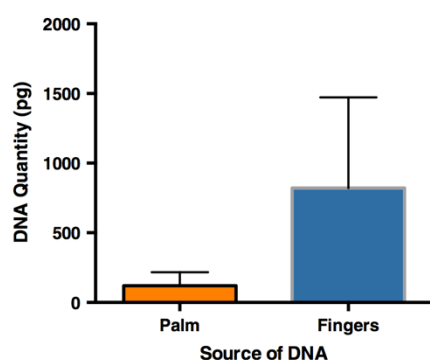


Figura 4. Transferencia de ADN comparando dedos y palma de la mano. Los dedos recogen y transmiten más ADN, y de mejor calidad que la palma. Esto puede deberse al grosor del estrato córneo y/o a la presencia de glándulas sebáceas en las falanges dactilares [19].

Por otro lado, los dedos y la palma no tocan los objetos de la misma manera. Las yemas de los dedos recogen más ADN que la palma (al rascar o tocar superficies de la piel); además, cuando transfieren el material genético, lo hacen en mayor medida y con mejor rendimiento que la palma (Figura 4) [19;21;38]. El rendimiento se define como la capacidad para producir perfiles genéticos, y a pesar de que la palma puede llegar a transmitir la misma cantidad de ADN, su rendimiento será inferior al de los dedos. Esta variación en la deposición de ADN podría explicarse debido al grosor y localización del estrato córneo (la capa más externa de la epidermis) de ambas superficies [38].

El estrato córneo de la palma es grueso (entre 0.5 mm y 2 mm) cuando se compara con el estrato córneo de la yema de los dedos (51 micrómetros de media, [42]). El tiempo de renovación de la epidermis cambia en función del grosor del estrato córneo, así como de la localización del cuerpo. No obstante, este tiempo no suele exceder de los 39 días [43].

Por otro lado, ya que los dedos transfieren más ADN que la palma, se podría pensar que también transmitirán más ADN exógeno (ajeno al de la persona en cuestión). McColl y col [40] observaron que las yemas de los dedos parecen tener, proporcionalmente, más ADN exógeno con respecto a otras partes de la mano, con lo que se podría favorecer la transferencia secundaria de ADN, un aspecto que se abordará con más detalle más adelante.

Hay que tener en cuenta que los objetos son manejados de manera diferente en función de su forma, su tamaño y del uso para el que han sido fabricados. También hay que destacar que objetos iguales pueden ser empleados de maneras diferentes por distintas personas [13]. De esta manera, diferentes partes de un objeto podrían presentar diferentes niveles de ADN que, además, podrían proceder de diferentes fuentes [13].

En ese contexto, Pfeifer y Wiegand [44] utilizaron 40 destornilladores, 10 palancas y 10 martillos para comprobar la persistencia del ADN en el mango de las herramientas, con un enfoque criminal. En su estudio, examinaron 234 muestras obtenidas a partir de 10 voluntarios y 60 herramientas (Figura 5). Una parte de los voluntarios usó las herramientas durante 30 segundos realizando actividades normales asociadas a dichas herramientas, y otro grupo las utilizó (con y sin guantes) para llevar a cabo simulaciones de actividades delictivas, como emplearlas para entrar en casas de manera forzada. Encontraron que cuando los segundos usuarios usaron las herramientas sin guantes, en 1/40 de los casos el “dueño” no pudo ser detectado como el mayor contribuyente del perfil genético, pero sí como el responsable de depositar la muestra recogida. Cuando usaron guantes, el “dueño” apareció en el 37% de las muestras. Los investigadores concluyeron que la cantidad de ADN que puede obtenerse depende de:

- cómo se hace el contacto (uso normal, uso intenso o uso moderado, siendo este último el que permite detectar más ADN del dueño)
- el material del que está hecho el mango (plástico, madera, goma, siendo éstas dos últimas las que mejor retienen el ADN del “dueño”)
- las características de la persona que los utiliza (si lleva guantes o no, detectando más ADN del dueño si el segundo usuario usa guantes). El experimento de van Oorschot y col. [45] coincide con la conclusión previa.

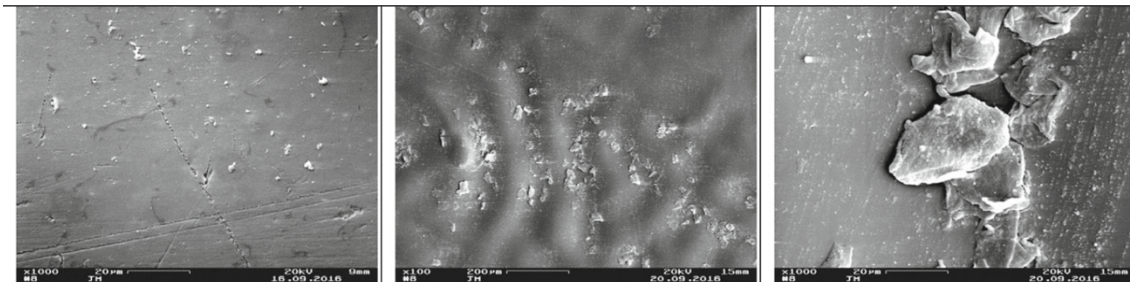


Figura 5. Micrografía de escaneo digital del mango de una de las herramientas (palanca de acero revestido). Se pueden apreciar los cambios en la superficie debido a su uso. La primera imagen corresponde a la herramienta sin ser utilizada; las otras dos, después de su uso (se pueden apreciar restos de piel). Barras: imágenes 1 y 3 (de izquierda a derecha): 20 µm; imagen 2, 200 µm [44].

Material y tipo de muestra

La cantidad de ADN transferido a un sustrato durante su uso depende de la persona que lo coge (estado de transmisión), qué mano ha utilizado para cogerlo, las actividades que ha realizado antes de tocar el objeto y del material del que dicho objeto esté hecho [6;9]. Como ya se ha mencionado, no depende del tiempo que el objeto ha sido usado. La cantidad de ADN que se puede detectar en un objeto tocado es variable, y está comprendida entre 0 ng y 169 ng [3;9;13;38;46-47].

Wickenheiser [6] defendió en su artículo de revisión, publicado en 2002, que las superficies, como la madera (porosa rugosa) tienen más capacidad para retener el ADN que las superficies tipo plástico (lisas no porosas). Sin embargo, Wickenheiser [6] también consideró que la cantidad de ADN que puede ser recuperado era menor en las superficies porosas rugosas que en las otras, según él, debido a procesos de recuperación no efectivos para las superficies rugosas.

No obstante, Goray y col [39] consiguieron una media de 11,68 ng de ADN extraído a partir de algodón (superficie rugosa); y solo consiguieron 0,4 ng de ADN a partir del plástico (superficie lisa). Con estos datos Goray y col. [39] concluyeron que la persistencia de ADN es más alta en superficies porosas primarias, las cuales permiten obtener el ADN depositado con más facilidad que las no porosas [1]. Además, estas mismas superficies adhieren las células epiteliales con más facilidad que las no porosas.

Por otro lado, Pesaresi y col. [48] postularon, en 2003, que son las superficies como el cristal (lisas no porosas) y no las parecidas a la madera (rugosas porosas), las que retienen más ADN. Esto puede ser explicado si se tiene en cuenta que el cristal, y los sustratos semejantes, incrementan el porcentaje de transpiraciones durante los contactos con la piel humana y, de esta manera, incrementan la cantidad de material genético depositado [48].

Un estudio reciente, realizado por Alketbi y col [49] en 2019, parece respaldar las afirmaciones realizadas por Pesaresi y col. [48]. En su estudio, utilizaron seis superficies diferentes con el objetivo de comprobar la transferencia de ADN (Tabla 2).

Tabla 2. Tipos de superficies. En verde, la superficie que permitió obtener la mayor cantidad de ADN (aprox. 0.10 ng/μL); en rojo, la que menos (< 0.02 ng/μL) [49].

SUPERFICIE			
LISA		RUGOSA	
POROSO	NO POROSO	POROSO	NO POROSO
Piel de plátano	Acero inoxidable	Madera	Plástico texturizado
Papel de impresora	Cristal	-	-

Según sus datos, recuperaron más ADN a partir de superficies tipo cristal. Por otro lado, se obtuvo muy poco material genético a partir del papel de impresora. Ellos concluyen, en base a sus resultados, que es recomendable utilizar hisopos de algodón o de nylon cuando se quiera recuperar ADN a partir de superficies no porosas como el cristal o el plástico texturizado; también aconsejan utilizar cintas a la hora de recuperar material genético cuando el sustrato sea papel o madera, que son superficies porosas [49].

En la misma vertiente, los estudios de transferencia de Buckingham y col. [50-51] concuerdan con los datos obtenidos por Alketbi y col [49]. En su experimento, los voluntarios cogieron cuchillos, que habían sido usados previamente por otros individuos, por el mango y, después, colocaron sus palmas en placas de cristal o de algodón. Sus resultados indican que se obtuvo más ADN a partir del cristal que de algodón.

Por otro lado, en el experimento de van Oorschot y col. [45] observaron diferencias entre objetos duros no porosos y suaves porosos. Cuando un objeto duro no poroso es utilizado por una segunda persona, diferente al dueño original, el porcentaje del dueño en el perfil genético cae inmediatamente (en el mismo momento del contacto con la segunda persona) al 50%, y desciende al 15% pasados los 90 minutos. En el caso de las superficies suaves no porosas, durante las primeras 10 horas el dueño sigue estando por encima del segundo usuario, pero a las 96 horas, su contribución al perfil genético es del 12%. Lo comprobaron con un total de 179 objetos.

Por otro lado, la sangre, la saliva y el semen se pueden transferir, tanto en su forma líquida como tiempo después de haberse secado [13]. Las sustancias biológicas líquidas se transfieren más rápidamente que las secas, y la sangre y la saliva lo hacen más o menos a la misma velocidad, a pesar de las diferencias en la viscosidad [39].

En lo referente a transferencia de ADN entre objetos, Goray y col. [39] observaron que el tipo de superficie en la que el material biológico se encuentra (sustrato primario) y la superficie con las que entran en contacto (sustrato secundario) condicionará cuanto ADN es transmitido [13]. Según sus investigaciones, las superficies no porosas transmiten más ADN que las porosas, y un sustrato secundario poroso retendrá mejor el ADN transferido. En su experimento [39], investigaron las tasas de transferencia de diferentes sustancias biológicas (ADN puro, sangre y saliva) en diferentes condiciones (líquidas o secas) y a diferentes sustratos (plástico, algodón y lana). Cuando las muestras eran líquidas, y se encontraban en sustratos primarios absorbentes (como la lana o el algodón), la transferencia era del 2,1% de media, y del 5,3% cuando se aplicaba presión. Esto se debe a que los materiales porosos, como el algodón, absorben el líquido y lo retienen, dificultando así la transferencia de material genético. Cuando cambiaron el sustrato primario por uno no absorbente, como el plástico, la tasa de transferencia aumentó hasta el 50-95%, en función del sustrato secundario (la transferencia era mayor cuando el sustrato al que se hacía la transferencia era absorbente). Las muestras secas, por su parte, tuvieron las menores tasas de transferencia. Cuando los sustratos primarios fueron lana y algodón, las transferencias fueron del 0,13% y 0,38%, respectivamente, y del 4,2% cuando el sustrato fue plástico. Warshauer y col. [34], obtuvieron resultados similares a los de Goray y col, corroborando sus resultados. En su caso, las tasas de transferencia de las sustancias líquidas fueron del 44% al 100%, y las secas, <1%. Teniendo en cuenta esto, sería de gran ayuda conocer los tiempos a los que las diferentes sustancias se secan.

La sangre, por ejemplo, suele secarse rápidamente, dependiendo de la temperatura, la humedad y la presencia o la ausencia de viento [13]. Van Oorschot y col. [45] observaron que la sangre puede secarse entre los 30-60 minutos después de la deposición, con volúmenes de 15 y 30 μL y un sustrato duro no poroso. A temperaturas más cálidas, el tiempo de secado es menor [45]. A partir de los 5 minutos después de la deposición, la transferencia de sangre va decayendo hasta que la muestra se seca completamente.

También percibieron [45] que la velocidad a la que la sangre se seca es independiente del sustrato en el que se deposite y del tipo de contacto que se ejerza, como plástico y algodón y aplicando presión, con temperaturas entre los 4°C y los 40°C. Es lógico pensar que diferentes volúmenes de sangre, como salpicaduras o grandes charcos de sangre, pueden presentar reacciones diferentes [45].

Por otro lado, los resultados obtenidos por Goray y col. [39] fueron recreados en experimentos similares de transferencia secundaria realizados por Verdon y col [52] y Fonnelløp y col. [37]. Además de los estudios de Goray y col. [39], otros estudios [9;38;53] también observaron diferencias en las cantidades de ADN transferidas directamente por las manos dependiendo del tipo de sustrato secundario. En conjunto, sus datos demuestran que más ADN se transfiere a la madera y a la tela (porosas) que al cristal, metal o plástico (no porosas) [13].

Se podría decir que, aunque no hay consenso sobre qué tipo de material es mejor para la transferencia de ADN (rugoso o liso), sí se puede afirmar que las sustancias líquidas transfieren mejor el material genético que las secas [39]. Además, los sustratos primarios no porosos (como el plástico) permiten una mayor transmisión, sobretodo a sustratos secundarios porosos (como el algodón). Como ya se ha explicado, esto se debe a que al tener poros, el líquido se puede ir acumulando, permitiendo una mayor acumulación de material biológico [39].

Edad

El estudio de Weidner y col. [54] demostraron que la edad está asociada a modificaciones epigenéticas, las cuales podrían afectar a las vías bioquímicas que conducen a la regeneración de las células epidérmicas (cornificación) y, por ende, a la descamación [14].

Poetsch y col. [11] colaboraron con 213 individuos para llevar a cabo su experimento sobre la influencia de la edad en la cantidad y calidad del ADN depositado. Los separaron en cuatro grupos según su edad: niños/as (hasta 10 años), adolescentes (11 a 20 años), adultos (21 a 60 años) y ancianos (+61 años). Los datos que obtuvieron indican que, en el grupo de los niños, aquellos menores de cuatro años son capaces de transferir las mayores cantidades de ADN, en comparación con el resto de los individuos del experimento. De todos los niños menores de cuatro años (n=25), el 79% fue capaz de aportar un perfil completo de ADN (todos sus alelos estaban presentes en los 16 STRs autosómicos estudiados). Los niños de cuatro a diez años (n=23) transfirieron menos ADN en comparación, en este caso se obtuvo un perfil completo del 68% de los voluntarios. Al parecer, esta gran cantidad transferida podría deberse no solo a células de la piel, sino también a otras células epiteliales, especialmente procedentes de la boca, debido a su comportamiento infantil característico [6]. A esto hay que sumar que la tasa de proliferación celular es más alta en niños que en los otros grupos de edad [36]. Además, su piel es más delgada, lo que podría conducir a una mayor cantidad de ADN depositado [55].

En el otro extremo se encontrarían las personas que menos ADN transfieren, que serían los ancianos mayores de 70 años en primer lugar, seguidos por los adolescentes menores de quince años. En los ancianos mayores de 70 años (n=35), solo se obtuvieron perfiles completos del 8% de los voluntarios, y todos ellos tenían edades comprendidas entre los 71 y los 80 años. Por encima de los 80 años ningún voluntario (n=10) dio un perfil completo. En el caso de los adolescentes menores de quince años, del 8% de los voluntarios (n=13) se obtuvieron perfiles completos [11].

Esto puede explicarse debido a la reducción en la tasa de renovación epidérmica, o la senescencia celular asociada al envejecimiento [14;56]. Eckhart y col. [57] propusieron que el proceso de cornificación podría estar relacionado con la cantidad de células desprendidas de la piel. Según ellos, conforme avanza la edad, el proceso de cornificación sufriría regulaciones a la baja, es decir, tendería a suceder con menos frecuencia. Esto implica que la velocidad a la que los queratinocitos se convierten en corneocitos para ocupar los sitios que han quedado libres tras la descamación, iría en detrimento conforme la persona envejece. De esta manera, individuos jóvenes tendrían más descamaciones y por ende, más corneocitos desprendidos que personas más mayores.

En el terreno intermedio se encontrarían los adultos [11]. En conjunto, a pesar de que existen variaciones visibles en la imagen asociada (Figura 6), los investigadores consideran que no existen diferencias significativas en lo referente a la cantidad de ADN depositado. No obstante, Poetsch y col. [11] observaron que solo el 25% dejó suficiente ADN como para obtener un perfil completo, es decir, obtener los 16 STRs autosómicos que los investigadores utilizaron como marcadores. Este experimento, de manera parecida a la del estudio realizado por Phipps y Petricevic [10], obtuvo resultados que chocaban con los aportados por el estudio de Lowe y col. [8]. A pesar de que Poetsch y col [11] usaron métodos similares a los empleados en los

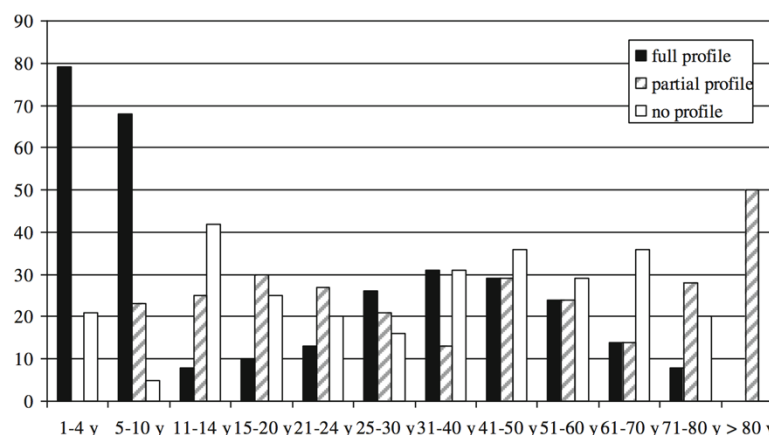


Figura 6. Transferencia en función de la edad. Las modificaciones epigenéticas relativas al recambio epitelial y asociadas al envejecimiento podrían influir en la cantidad de ADN que un individuo deposita, haciendo que los individuos más jóvenes sean excelentes transmisores [11].

experimentos anteriormente mencionados, Lowe y col. [8] nunca especificaron la edad de los voluntarios que participaron en su estudio. Es probable que ese factor pueda explicar el desfase de resultados entre ambos estudios [11].

Lavado de ropa

El ADN puede ser transferido a la ropa a través de diferentes mecanismos, entre los que se incluye el lavado, ya sea en la lavadora o a mano, o incluso en la secadora [13].

Van den Berge y col. [25] investigaron la transferencia de ADN y ARN en la lavadora, mezclando prendas de ropa libres de ADN y trozos de ropa con cantidades conocidas de sangre o saliva (10 μ L y 20 μ L, respectivamente), que luego mezclaron con la ropa normal. Así estudiaron la transferencia directa e indirecta, y la persistencia del material genético (ya que los detergentes presentes en la lavadora podrían tener un efecto nocivo sobre estas moléculas). Observaron que, de aquellas prendas de ropa manchadas con sangre, podían obtener de media 0,11 nanogramos de ADN (cuando de media una mancha de sangre tiene 13,34 nanogramos). En el caso de la saliva, pudieron obtener 0,04 nanogramos (cuando de media una mancha de saliva tiene 5,55 nanogramos de ADN). Con estos resultados, calcularon que el porcentaje de persistencia del ADN, en ambos casos, era del 0,001%. No obstante, ellos [25] especulan que el hecho de haber utilizado cinta para la recogida del material genético podría hacer que estos números fueran una subrepresentación.

Observaron también que la sangre conserva mejor el ADN que la saliva [25]. A pesar de que su porcentaje de persistencia es el mismo, en las muestras de sangre pudieron recuperar hasta el 19% de los alelos presentes en el perfil del donante; en el caso de la saliva esto fue del 3%. En el caso de la transferencia directa, solo pudieron obtener perfiles incompletos, con un máximo de 9 alelos transferidos (estudiando 15 STRs), cuyo origen, ya fuera sangre, saliva u otros, fue desconocido. En el caso de la transferencia indirecta, consiguieron menos alelos todavía, y un origen incierto. Por tanto, ellos concluyeron que la transferencia y la persistencia de ADN es posible, pero está limitada a pocos alelos [25].

No obstante, diferentes artículos han concluido que los perfiles genéticos presentes en manchas de semen, sangre y saliva pueden ser recuperados incluso después del lavado. Y no solo eso, sino que además se pueden obtener de otras prendas que se han lavado junto con aquella que está manchada o incluso del tambor de la lavadora [2;15;58-60].

El estudio de Kamphausen y col. [58], por ejemplo, demostró que la sangre resiste en la lavadora, no como la saliva o, mucho menos, las células epiteliales. En su estudio, que involucró a 15 personas, estudiaron las transferencias de 3 sustancias biológicas mediante el lavado (a mano o a máquina): sangre, frotis bucales y células epiteliales obtenidas al frotar el cuello de los voluntarios con prendas de ropa durante 5 segundos de manera moderada. Con respecto a la sangre, observaron que no existían diferencias, ni en el tipo de lavado ni en el uso o no de detergente, para la transferencia. En todas las prendas en las que depositaron la muestra de sangre, después del lavado pudieron obtener perfiles completos. En 29 de las prendas limpias que se lavaron junto a la sangre, pudieron obtener perfiles completos y, en otras 17, perfiles parciales. La cantidad de ADN que ellos pudieron recuperar estuvo en el rango comprendido entre 10 ng y 65 ng.

En el caso de los frotis bucales, restregados en prendas de ropa que luego se lavaron con ropa limpia, no obtuvieron ni perfiles genéticos en las prendas en las que se realizó el frotis, ni en aquellas que se lavaron conjuntamente. La cantidad de ADN recogida estuvo en el rango comprendido entre 0 ng y 12 ng.

En el caso de las células epiteliales, descubrieron que podían obtener más perfiles en el caso de lavar a mano que en el caso de la lavadora. Cuando lavaron a mano, sin detergente, pudieron obtener perfiles parciales de hasta 11 individuos, mientras que en el caso de la lavadora esto solo sucedió con 2 personas de las 15 que participaban. Las cantidades de ADN que pudieron recuperar estuvieron en el rango de 670 pg a 52 ng en el caso del lavado a mano, y entre 140 pg – 870 pg en el caso de la lavadora. Estos investigadores concluyeron que la transferencia de células de una prenda a otra en una lavadora puede suceder de dos formas diferentes: las células

quedan suspendidas en la solución acuosa y luego son transferidas a la prenda aceptora, o bien las prendas entran en contacto directo.

Según ellos [58], eliminar el ADN presente en manchas de sangre de la ropa es extremadamente difícil, pues ellos no lo consiguieron. Además, la transferencia de células epiteliales de una prenda a otra durante el proceso de lavado, al menos para poder producir algún tipo de perfil genético, es prácticamente imposible. Probablemente se deba a los detergentes, que contienen lejías y radicales de oxígeno muy potentes, que son agresivos para el ADN. Aunque tampoco obtuvieron resultados cuando no usaron detergente, por lo que la simple disolución acuosa de lavado podría tener suficiente potencial como para eliminar de manera eficiente las células epiteliales [58].

En la misma línea, Voskoboinik y col. [15] investigaron la posibilidad de la transferencia secundaria mediante ropa sucia a ropa limpia en una lavadora, así como la posibilidad de transferencia terciaria, del tambor de la lavadora o secadora a ropa limpia. Para la transferencia secundaria utilizaron 32 calcetines de algodón, que lavaron junto con la colada normal de cuatro casas diferentes. De las 32 muestras, 7 (el 22%) presentaron cantidades de ADN por encima del umbral mínimo de detección: 0,06 ng/ μ L (específico de su laboratorio). De estas, 6 dieron perfiles genéticos que procedían de una única fuente o una mezcla. En lo referente a la transferencia terciaria, en la que utilizaron calcetines de algodón y de lana y camisetas de algodón, no encontraron ADN en las muestras después del lavado. La cuantificación de ADN estaba por debajo del umbral de detección (entre 0,001 y 0,003 ng/ μ L), al igual que las muestras de los tambores de las máquinas.

Por otro lado, Ruan y col. [2] fueron capaces de obtener un 76% de perfiles de ADN al cambiar del kit SGM Plus (que requiere 0,5 nanogramos de ADN para amplificar), empleado por Voskoboinik y col. [15], al PowerPlex 21, que es más sensible que el anterior, según la propia explicación de los investigadores. En su experimento, lavaron trozos de tela de algodón con la colada normal de los voluntarios en sus propias lavadoras, para comprobar la transmisión del ADN, de manera similar a la de Voskoboinik y col. Observaron que, de las 38 muestras, 29 (76%) presentaban perfiles de ADN, de las cuales 21% procedían de una sola fuente y el resto, 55% eran mezclas. Las cantidades de ADN obtenidas de estos trozos de tela fueron de hasta 4,59 ng, con una media de 1 ng.

Estos investigadores [2] también estudiaron la transferencia de ADN a la ropa utilizada a lo largo de un día, con 50 voluntarios que usaron camisetas suyas a lo largo de 9 horas de media. Las camisetas fueron analizadas antes y después, y especificaron 3 áreas concretas de estudio: la parte delantera, la trasera y los hombros. La cuantificación de ADN, antes y después del día del experimento, fue (de media, en nanogramos): parte delantera (0,96 y 9,51), parte trasera (0,48 y 3,96), hombros (0,81 y 5,64). En conjunto, todas las zonas aumentaron x8 su cantidad de ADN. En la parte delantera encontraron más ADN endógeno (de la persona que llevaba la camiseta), mientras que la parte trasera tendía a mostrar más perfiles mezclados, del propietario y de otras personas [2].

Debido a los resultados negativos para la transferencia terciaria, que obtuvieron al realizar frotis de 20 máquinas (15 lavadoras particulares, 3 secadoras y 2 lavadoras/secadoras combinadas), Voskoboinik y col. [15] sugieren que la transferencia de ADN no es mediada por la máquina en sí misma, sino más bien por la propia ropa sucia. Una teoría que parece ser avalada por el hecho de que se consiguen más alelos transferidos cuando el lavado se hace a mano en vez de a máquina. Como en el experimento de Helmus y col [60], en el que depositaron ADN en ropas de algodón al frotar la prenda en el cuello de los voluntarios durante 5 segundos, y luego sumergieron las prendas bajo un grifo abierto (agua fría o caliente con diferentes periodos de tiempo con un máximo de 10 minutos) o en una bañera (agua con o sin jabón y con diferentes periodos de tiempo con un máximo de 7 días). Observaron que en el caso del grifo pudieron obtener perfiles completos del 40% de las muestras (n=80), y de aquellas prendas sumergidas en la bañera, el 56% (n=100) dio perfiles de ADN completos. Cuando se usó una lavadora, solo el 13% dio perfiles, y estos eran parciales [58].

Persistencia del ADN transferido

La persistencia de cualquier material biológico dependerá de la temperatura, la exposición a los rayos ultravioleta, lluvia, viento, humedad, y la presencia de microorganismos en la superficie donde ha sido depositado [13]. Normalmente, el ADN de muestras biológicas puede tener cantidad y calidad suficiente como para generar perfiles completos de STRs, incluso décadas después de ser depositado [13;47].

Tiempo y condiciones ambientales

Desde el momento de su deposición, la cantidad de ADN que puede ser recuperada a partir de una muestra decrece con el paso del tiempo. La capacidad de transmisión del sujeto es importante de cara a la conservación del material genético, y a su posterior recuperación [61]. Si un buen transmisor toca un objeto y este es almacenado durante cierto tiempo, la cantidad de ADN que se podrá recuperar de dicho objeto será superior que si la persona hubiera sido una mala transmisora [61]. Esto se observó en un experimento realizado por Lowe y col. [61], donde individuos voluntarios sujetaron tubos de plástico durante 10 segundos, que luego fueron almacenados durante cuatro meses a temperatura ambiente. Bille y col. [62] también pudieron observar esto, cuando en su investigación establecieron dos tiempos: muestras analizadas a la semana de la deposición, y muestras analizadas a los 90 días de la deposición. Las concentraciones de ADN fueron, de media, 0,34 ng/μL y 0,04 ng/μL, respectivamente. Ambos experimentos concuerdan con la conclusión del artículo publicado por Raymond y col. [47], en el que argumentaban que el paso del tiempo es crucial para el deterioro del material genético.

La velocidad de esta degradación se ve influida por las condiciones a las que el objeto tocado se ve expuesto. Si la muestra se encuentra en un ambiente húmedo, el ADN presente será susceptible de sufrir diferentes daños, como la escisión hidrolítica o la oxidación de las bases nitrogenadas, ambos con efectos desastrosos para la cadena polinucleotídica [63]. No obstante, a pesar de que la humedad puede conducir a un incremento en la velocidad de degradación del material genético, también puede amplificar su transferencia [1]. Por ejemplo, Goray y col. [39] observaron que cuando el ADN se encuentra en un sustrato de plástico (liso no poroso), solo se transfería un 4.2% del total a la otra superficie cuando la muestra estaba seca. Cuando cambiaron a una muestra líquida, la transferencia estuvo en un rango comprendido entre el 50% y el 95%.

Las temperaturas elevadas favorecen la escisión hidrolítica, con lo que se produce rotura directa de las cadenas de ADN debido al secado de la muestra [63]. El sol también es perjudicial para las muestras con ADN, ya que sus rayos ultravioletas pueden llegar a provocar un entrecruzamiento de los nucleótidos de timina adyacentes, lo que obstaculizaría el recorrido de la ADN polimerasa durante la PCR en el laboratorio, con lo que se reduciría enormemente su rendimiento para el perfilado genético. [1]. Además, si el ADN se encuentra libre, es decir, no en el interior de células, se degrada más rápidamente que si se encontrara en el núcleo celular [64].

Persistencia del ADN en las uñas

Diferentes estudios [65-74] han puesto de manifiesto que el ADN exógeno puede acumularse bajo las uñas. Lederer y col. [65] fueron capaces de identificar el ADN de una víctima de agresión sexual bajo las uñas del atacante, dos días después del suceso y en todos los loci que estudiaron (5 en este caso). Harbison y col. [67] revisaron dos casos donde las uñas fueron utilizadas como pruebas. En el primero, el ADN extraño era casi todo de hombre, y estaba bajo las uñas de la mano izquierda de una mujer fallecida, cuyo cuerpo había estado sumergido durante 2 horas en una bañera. En el segundo caso, el ADN extraño fue el mayoritario en todos los STR estudiados, de muestras de uñas de la mano izquierda de una víctima de suicidio que fue hallada en agua 3 horas después de su fallecimiento, y que tocó la cara de un compañero masculino 3 horas antes de su muerte. Malsom y col. [68] informaron de que el 37% (53/144) de sus muestras de parejas que cohabitaban presentaban perfiles de ADN que no coincidían con el donante. Henderson y col. [69] observaron, en raspados de uñas, ADN desconocido en 4 de las 48 muestras investigadas.

Además de los anteriores, otros investigadores [70-74] han profundizado en ciertos aspectos importantes sobre la presencia de ADN bajo las uñas, como el efecto que tiene la zona que han tocado las uñas o el tiempo transcurrido desde la deposición.

Por ejemplo, Flanagan y McAlister [70] investigaron la presencia de ADN femenino en las uñas de hombres después de una penetración digital de la vagina. Los voluntarios fueron 8 parejas con relación íntima. En cada caso, los varones introdujeron los 5 dedos de la mano derecha en la vagina de la mujer, con el objetivo de transferir el ADN femenino bajo las uñas. Luego se midió la persistencia de dicho ADN, y se fue comprobando a las 6, 12 y 18 horas. Observaron que, hasta las 6 horas, se podían obtener perfiles femeninos completos (en este experimento, un perfil completo se consigue con 20 alelos). A partir de ese momento, los perfiles que podían obtener eran mezclas informativas masculinas y femeninas. Más concretamente, a las 12 horas hallaron alelos informativos en el 75% de las muestras, y en el 63% a las 18 horas. Según sus datos, aproximadamente cada 6 horas el número de alelos detectables decrece [70]. En este experimento, el lavado de manos disminuyó significativamente la persistencia del ADN (uno de los voluntarios se lavó las manos considerablemente más veces que el resto de los voluntarios, y al analizar sus uñas éstas no dieron perfiles, o perfiles parciales, mientras el resto daba cantidades más elevadas de material genético). Que el ADN de la mujer pueda ser obtenido a partir de penetraciones en la vagina no es raro. Esto se debe a diversos factores: la mucosa vaginal es una fuente abundante de células epiteliales, la humedad natural de la zona y el poder de compactación física bajo las uñas [70].

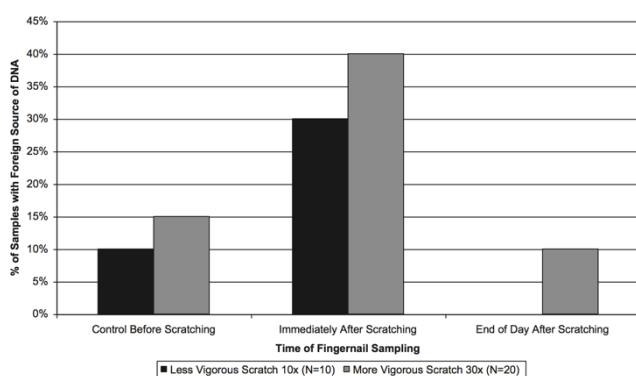


Figura 7. Diferencias en la acumulación de ADN bajo las uñas en función del vigor del rascado. La intensidad con la que las uñas entran en contacto con una superficie determinará cuánto material de dicha superficie quedará retenido bajo ellas y disponible para un perfilado genético. La última columna (*end of day after scratching*) se tomó 6 horas después del contacto [71].

Matte y col. [71] llevaron a cabo diferentes estudios, tanto de casos policiales como con voluntarios, sobre la presencia de material genético bajo las uñas. De 265 muestras de investigaciones policiales, el 33% manifestó la presencia de ADN extraño en las uñas, de los cuales, el 63% fue detectado en 5 o más de los STRs comprobados (9 en total). En un experimento con voluntarios (personal universitario), que pretendía representar a la población general, tomaron 178 muestras, de las cuales 19% tenía ADN exógeno bajo las uñas, con 35% detectado en 5 STRs o más de los 9 estudiados.

Parecido al experimento anterior de Flanagan y McAlister, los investigadores llevaron a cabo una tercera parte de su experimento que consistió en que parejas de voluntarios se rascarán el antebrazo (n=30). Querían comprobar si la vigorosidad del rascado afectaba a la detección del ADN, y el tiempo que este ADN podía ser detectado (Figura 7).

Después del rascado, el ADN extraño fue hallado en el 33% de las muestras. No obstante, y contrario a lo observado por Flanagan y McAlister, Matte y col. [71], a las 6 horas después del experimento, solo pudieron hallar ADN ajeno en las uñas del 7% (2/30) de las muestras. En base a esto, ellos concluyen que el factor que más afectó a la persistencia del material genético de las uñas fue el paso del tiempo [71].

En comparación con otras partes del cuerpo (manos, cara, etc), este ADN está más protegido, hasta cierto punto, de los contactos físicos con otras personas y de las acciones que un individuo lleve a cabo. Por tanto, sería lógico pensar que debería perdurar más tiempo. De hecho, los resultados de Flanagan y McAlister [70] así lo demuestran. No obstante, Matte y col. [71] consideran que esto no es lo común. En su experimento [71] potenciaron la transferencia de ADN a las uñas al llevar a cabo el rascado, ya fuera con vehemencia o ligeramente. Aún así, solo pudieron encontrar ADN exógeno bajo las uñas de 2/30 personas, después de 6 horas desde el momento del contacto. En conjunto, estos experimentos [70-71] indican que se necesita más que un contacto casual para adquirir ADN extraño bajo las uñas, o que la superficie con la que la uña entra en contacto tiene un impacto sobre la cantidad de ADN que es transferido. Sin embargo,

el tiempo que el ADN perdura bajo las uñas es variable, probablemente debido a la zona con la que se entra en contacto (se acumulará más ADN si la zona es húmeda o si hay algún fluido) [71] así como a la higiene de manos [70].

Como ya se ha relatado, en el estudio de casos policiales, Matte y col. [71] detectaron en el 33% de las muestras perfiles de ADN exógeno. Sin embargo, Lai y col. [72] solo observaron este material extraño en el 14% de las muestras. Esta divergencia podría explicarse teniendo en cuenta que Matte y col. [71] llevaron a cabo un tratamiento minucioso y exhaustivo de las muestras, lo que podría incrementar la detección de material genético exógeno.

Para hacerlo, los investigadores Matte y col. [71] explicaron su método, el cual había sido perfeccionando a lo largo de los años y que les había permitido mejorar notablemente su rendimiento (Figura 8).

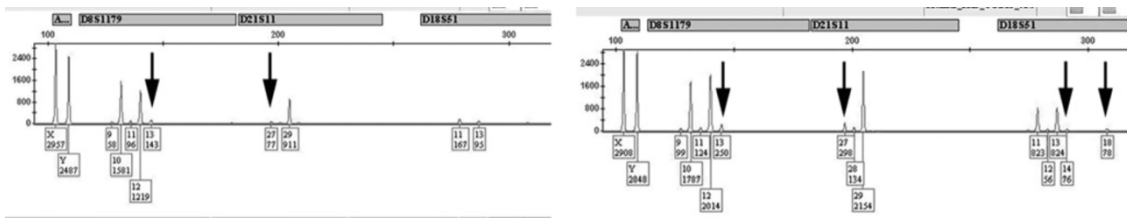


Figura 8. Perfilado genético antes (izquierda) y después (derecha). La imagen de la izquierda se obtuvo mediante frotis de las manchas de sangre presentes bajo la uña. La imagen de la derecha se obtuvo mediante frotis de la misma uña pero una vez la sangre del donante había sido retirada. Las flechas indican alelos ajenos al donante de la uña. [71].

Ellos explican que, en caso de víctimas de asaltos sexuales, suelen utilizar un raspador de madera biselado (Figura 9a.). Después de tomar la muestra, cortan el raspador unos 5mm antes del final, y lo mezclan con cualquier resto de uña. Después, juntan todos los restos de uñas de cada mano como una sola muestra para el análisis genético posterior.

En aquellos casos en los que se han recuperado trozos de uña de la zona del crimen, que generalmente se corresponde con homicidios, se recogen las muestras intentando minimizar el ADN procedente del donante para maximizar el ADN extraño. Esto cobra relevancia en aquellos casos en los que en las uñas hay manchas de sangre, pues normalmente esta sangre procede de la víctima y, por tanto, enmascararía el ADN extraño (Figura 9b.).

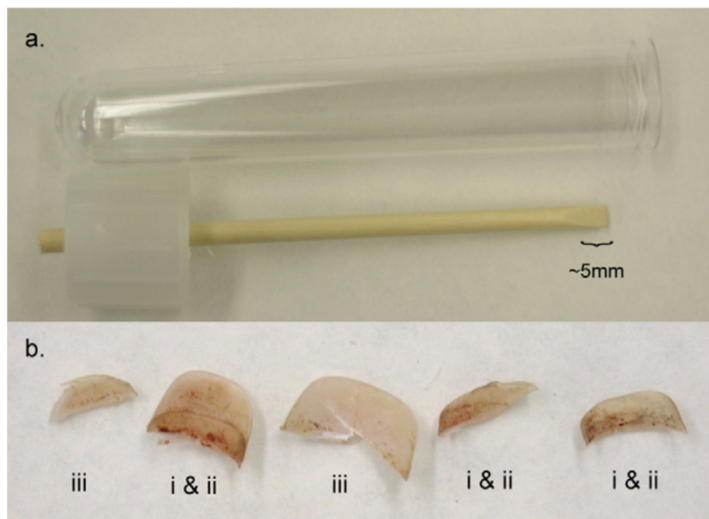


Figura 9. Raspador de madera biselado (a.) y muestras de uñas con restos de sangre (b.). Instrumento y muestras empleados por Matte y col. [71]. Se indica el extremo que suele cortarse del raspador para mejorar la identificación del material genético exógeno (a.) [71]

Por otro lado, rascar la piel de una persona contribuye a que se deposite más ADN de dicha persona bajo las uñas del individuo que rasca [71]. Aún así, es posible obtener un resultado negativo en las uñas que han rascado [73]. Kettner y col. [73] demostraron esto en un experimento en el que se rascó el costado de los voluntarios masculinos (n=34) de manera

vigorosa por mujeres. Los dedos que se usaron para rascar tuvieron una concentración superior de ADN que aquellos que no rascaron, pero en el 31% de las muestras no se detectó ADN masculino después del rascado [13]. Estos resultados indican que a pesar de que se obtengan resultados negativos, esto no implica que un arañazo no tuvo lugar. Que esto suceda podría ser debido a la edad del individuo que ha sido rascado, su sexo (según los datos presentados en este TFG los hombres tienden a depositar más ADN que las mujeres) e incluso el rascador, debido a su habilidad para la transferencia de material genético.

En la misma vertiente, Wiegand y col. [66] investigaron arañazos superficiales en diferentes partes del cuerpo: cuero cabelludo, brazos y cuello. Estadísticamente hallaron más ADN exógeno en aquellas muestras procedentes de rasguños en cuello y cuero cabelludo. No obstante, es posible que las diferencias en los métodos de obtención de las muestras de las uñas pudieran tener algo que ver. En las muestras de uñas que habían rascado cuero cabelludo y cuellos utilizaron un método poco invasivo, en el que se llevó a cabo una eliminación ligera de la muestra. En el caso de aquellas uñas que rascaron brazos usaron una limpieza extensa con la consiguiente abrasión de uña y piel [13].

Las relaciones que mantienen las personas también influyen en la presencia de ADN bajo sus uñas. Por ejemplo, en el estudio de Dowlman y col. [74], tomaron muestras de ambas manos de 40 voluntarios. El 41% de las muestras (33/80) presentaron perfiles mezclados. De esos 33, 25 fueron mezclas de dos personas (el donante y alguien más). Y de esos 33, 8 fueron mezclas de hasta 3 personas. La mayoría de estas muestras procedían de voluntarios que afirmaron tener hijos, con lo cual los investigadores sugirieron que las relaciones familiares de convivencia, como una pareja y un hijo, favorecen la presencia de material genético bajo las uñas, así como las relaciones íntimas. Esto va en contra de la teoría de Matte y col. [71] de que un ambiente compartido y con objetos comunes no es suficiente para la transferencia de ADN bajo las uñas, y es poco probable, por tanto, que un encuentro casual como podría ser un apretón de manos dé lugar a la presencia de ADN bajo las uñas [71]. Por tanto, la detección de un perfil de buena calidad de ADN podría ser el resultado del contacto con un fluido corporal ajeno, como saliva, sangre o semen, más que de un contacto fortuito con células de la piel [71].

Entonces, ¿cómo se explica el hecho de encontrar ADN extraño bajo las uñas de víctimas de actos violentos que, por lo general, son fortuitos y repentinos? Ciertamente, en un laboratorio es difícil recrear el pánico y la desesperación que se podrían experimentar en una situación real en la que la vida corre peligro. Es lógico pensar que, en una situación de ese calibre, una persona sería capaz de arañar con la fuerza necesaria como para que la muestra bajo sus uñas pudiera dar lugar a un perfil de ADN ajeno al suyo.

Con los datos aquí reunidos, se puede decir que los factores que afectan a la presencia de ADN ajeno en las uñas son:

- El tiempo desde el último contacto con alguien (más ADN cuanto menos tiempo)
- La zona tocada (como la vagina o el antebrazo)
- Las actividades realizadas después de ese contacto (como el lavado de manos).
- El sexo de la persona (mayor detección en hombres)
- Las relaciones personales y/o íntimas (pareja + hijos aumenta la presencia de ADN en las uñas)
- El método empleado para la toma de la muestra (como el empleado por Matte y col. [71])
- La presencia de fluidos corporales (sangre, semen o saliva)
- La longitud de las uñas.

Persistencia del ADN en la saliva

El tiempo de persistencia del ADN en la saliva depende de la salivación, que podría variar enormemente entre diferentes individuos. En el caso de asaltos sexuales, esto podría cambiar en aquellas situaciones en las que la víctima fallece durante o poco después del asalto, ya que la salivación se detiene, por lo que el ADN podría perdurar más tiempo en la saliva (horas incluso) [75]

La saliva, al igual que los objetos que son salpicados por la misma, constituyen unas fuentes fiables y valiosas de ADN [75]. Cualquier contacto físico en el que la boca intervenga implica la transferencia de material genético, desde un individuo a otro [76]. De media, la concentración de ADN que se transfiere por la saliva a través de un beso es de 22.23 ng/ μ L [75].

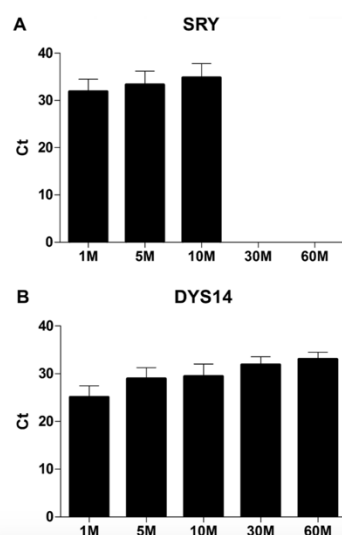


Figura 11. Detección de ADN masculino en función del tiempo. Gen SRY (A) y STR DYS14 (B), ambos presentes en el cromosoma Y. A la izquierda se indica el número de ciclos necesarios para amplificar el ADN hasta alcanzar un nivel detectable (umbral de ciclo o CT). Abajo, los minutos pasados desde el contacto [75].

Después de un beso, el ADN transferido va disminuyendo, sobre todo debido a la salivación. En un estudio [75] con 12 voluntarias, a los 10 minutos después del beso, encontraron ADN en 11 de las voluntarias; a los 30 minutos, en 10; a los 60 minutos, en 8 [75]. No obstante, Banaschack y col. [76] obtuvieron resultados que les llevaron a concluir que la transferencia de ADN mediante un beso es posible, pero que está reducido a un periodo de tiempo muy limitado después del beso (1 minuto en su investigación).

Con respecto a los asaltos sexuales, que la víctima consiga sobrevivir al ataque supondrá que la salivación continúe, lo cual diluirá el ADN del atacante. En estos casos es recomendable escupir en algún recipiente lo antes posible, ya que se podría utilizar en el futuro para obtener el ADN del culpable [75]. De hecho, sería mejor hacerlo en algún tipo de material absorbente, ya que al secarse el ADN podría perdurar más tiempo [75].

Por otro lado, para la detección y cuantificación de ADN cromosomal masculino en muestras forenses, se suelen utilizar ensayos que se basan en secuencias del cromosoma Y [75]. Normalmente, se busca la región del gen SRY, puesto que ésta solo está presente en hombres. No obstante, el estudio de Zimmerman y col. [77] puso de manifiesto que se consigue más sensibilidad si en vez de ir a por el gen SRY, se analizaban secuencias repetidas presentes en el cromosoma Y (Y-STRs). El experimento de Kamodyová y col. [75] corroboró esto, ya que al usar la técnica Y-STR, obtuvieron mejores resultados que con la del gen SRY (Figura 11). No obstante, hay que tener cuidado a la hora de identificar a alguien con este método, ya que diferentes personas pueden tener el mismo perfil STR en el cromosoma Y, por azar [75]. Kamodyová y col. [75] concluyen que hay que afinar este método de detección para que sea más sensible y fiable.

Transferencia secundaria de ADN



Figura 12. Representación de la transferencia secundaria de ADN. Un individuo o una fuente de ADN cualquiera deposita su material genético en la superficie A, el cual será transferido mediante un vector a una superficie B [13].

La transferencia secundaria es la transmisión indirecta de material genético, de un sustrato a otro, a través de un intermediario [13]. Fue descrita por primera vez a finales del siglo XX, y fue

descubierta junto a la transferencia directa y, en general, a la posibilidad de la transmisión de material genético mediante el contacto [3] (Figura 12).

Van Oorschot y Jones [3] frotaron bastoncillos de algodón en los guantes de vinilo que sus voluntarios habían empleado durante el experimento. Después, llevaron a cabo una PCR con 28 ciclos y amplificaron específicamente para el locus TH01. Una vez hecho esto, descubrieron alelos que no pertenecían a ninguno de los voluntarios. Para explicarlo, postularon que la transferencia secundaria podría ser la responsable [3]. Para asegurarse de que no se debía a un error experimental, frotaron con bastoncillos de algodón las palmas de los voluntarios antes y después de darse la mano durante un minuto. De las 4 manos examinadas, una reveló transferencia secundaria, por lo que concluyeron que era una posibilidad real, y alertaron de su potencial peligro de cara a los análisis forenses y procesos judiciales asociados [3].

De hecho, la transferencia secundaria ya ha sido responsable del encarcelamiento de personas inocentes. Por ejemplo, en 2013, Lukis Anderson fue arrestado en Estados Unidos, encarcelado durante 4 meses y acusado de asesinato después de que su ADN fuera hallado bajo las uñas de una víctima de homicidio. Anderson nunca había entrado en contacto con la víctima y, además, se encontraba ingresado en un hospital en el momento en el que la víctima fue asesinada. Los mismos paramédicos que trasladaron a Anderson al hospital acudieron a la escena del crimen del que posteriormente se le acusó. Seguramente, los paramédicos estaban cubiertos con el ADN de Anderson y lo transfirieron, de manera involuntaria, al cadáver. Finalmente, los cargos contra Lukis Anderson fueron desestimados al alegar transferencia secundaria de ADN como motivo de peso para que su material genético fuera hallado en la víctima [16;78].

Aunque es cierto que diferentes estudios han sido capaces de dar testimonio de la transferencia secundaria de ADN, los resultados en conjunto indican que, aunque posible, es limitada. No obstante, las nuevas tecnologías permiten que detectar este tipo de transferencia sea más probable [28]. En diferentes estudios en los que se llevaron a cabo apretones de manos entre las personas A y B, después de los cuales la persona B tocó una superficie a partir de la cual se obtuvo ADN, se encontraron alelos desconocidos, en un rango comprendido entre el 14% y el 72% de las muestras examinadas [8;27;31;78].

En experimentos en los que los voluntarios depositaron las manos directamente en tubos de plástico o láminas de cristal, sin apretón de manos, también se pudieron hallar alelos extraños, en el 15% y 72% de las muestras examinadas, respectivamente [14;22]. También fue posible evidenciar este tipo de transmisión en experimentos con prendas de ropa. Fonnelløp y col [28], obtuvieron alelos extraños en el 9% de sus muestras de camisetas (n=80). Ruan y col. [2] recuperaron alelos extraños en el 76% de sus muestras, que habían sido lavadas con ropa sucia (fuente de ADN) en una lavadora.

Por otro lado, Ladd y col. [79], no observaron la transferencia secundaria, a pesar de que sí alertaron de haber observado alelos extraños de manera esporádica, pero que se encontraban por debajo del umbral de detección y que, por tanto, nunca dieron un perfil secundario. Phipps y Petricevic [10] observaron muy poca transferencia secundaria en su experimento, en el que participaron 60 personas y que se basaba en un experimento diseñado por Lowe y col. [8]. En éste, los voluntarios sujetaron durante 10 segundos tubos de plástico estériles. En total fueron capaces de obtener 581 alelos, de los cuales solo 14 fueron extraños, y de esos, 7 procedían de una sola muestra. Además, solo obtuvieron estos alelos de origen desconocido en aquellas partes del experimento en el que los voluntarios no se lavaron las manos, lo cual podría explicar esa acumulación extra de material genético (según la propia explicación de los autores). Oleiwi y col. [19] realizaron estudios sobre la transferencia de ADN de diferentes partes de la mano (palma y dedos) sobre placas de cristal aplicando una presión de 4900 Pa. En su estudio no informaron en ningún momento de la presencia de ADN que no se correspondiera con el de los voluntarios, con lo que se puede afirmar que no observaron transferencia secundaria. Esto concuerda con la hipótesis formulada por Wickenheiser [6], de que la transferencia secundaria, aunque posible, es muy improbable.

Discusión

Aunque al principio se pensaba que el ADN encontrado en objetos tocados tenía su origen en las células desprendidas [6;13;18-19], los últimos datos parecen indicar que en realidad el ADN procedería de secreciones corporales (sebo y sudor) que transportarían restos de CNAs y serían depositados posteriormente en el momento del contacto [21-24]. Por tanto, a pesar de que los corneocitos carecen de orgánulos celulares, el ADN aislado en las superficies tocadas podría originarse por los restos de degradación del ADN, presentes todavía en los corneocitos, además de estar compuesto por ADN libre de células epiteliales procedente de glándulas secretoras [14;23;25-26]

Por otro lado, parece ser que es difícil determinar el estado de transmisión de las personas [10]. Las primeras investigaciones en esta área observaron que las personas podían ser o buenas o malas transmisoras [8;27]. Estudios posteriores indicaron que existía una tercera categoría en la cual se podría incluir a la mayoría de la población: los transmisores intermedios [22;29]. Según los últimos datos una misma persona podría fluctuar entre los tres estados en función del uso o no de guantes [22], la higiene de manos y el uso o no de la mano dominante para llevar a cabo el contacto [10]. Sin embargo, no todos los autores han hallado diferencias en la deposición de material genético debido a la higiene de manos [22;31]. De igual forma, no todos los autores han observado diferencias significativas entre el uso o no de la mano dominante [22;29]. Con los datos aquí expuestos se evidencia las dificultades existentes a la hora de catalogar a una persona como buena, intermedia o mala transmisora de manera constitutiva a día de hoy [10-11;14;22;30].

Por otra parte, parece ser que los varones [22;29] más jóvenes serían mejores depositadores de ADN que el resto de las personas [11]. En especial, los niños (hasta 10 años) y, más concretamente, aquellos menores de cuatro años [11]. Esto podría explicarse por su elevada tasa de renovación epidérmica, así como por el grosor de su piel, que al ser más delgada que el del resto de personas podría permitir una mayor transmisión de material genético [36;55]. En el otro extremo se encontrarían las personas mayores de 70 años, cuyas deposiciones serían nulas o escasas [11]. Las modificaciones epigenéticas que sufren las rutas bioquímicas de la renovación epidérmica podrían ser el motivo [14;54;56]. Eckhart y col. [57] propusieron que el envejecimiento está asociado con una menor producción de corneocitos, lo cual implicaría que la descamación de la piel se daría con menor frecuencia, indicando de esta manera que cuánto más joven se es, más piel se puede desprender.

El material con el que se entra en contacto también es importante para la transferencia y recuperación del material genético. Con los artículos empleados para la confección de este trabajo, se puede afirmar que, actualmente, no existe consenso sobre qué tipo de superficies son mejores: si las rugosas o las lisas. Por un lado, Wickenheiser [6] y otros [9;37-39;52-53] postulan que las superficies como la madera (rugosas porosas), son mejores debido a que su superficie irregular y con poros permite una mayor acumulación de material genético. Goray y col. [39] obtuvieron más ADN a partir de algodón (rugoso) que de plástico (liso), dando a entender que la persistencia de ADN es mayor en los sustratos primarios rugosos, los cuales exponen el ADN con más facilidad que las superficies no porosas [1]. Sin embargo, Pesaresi y col. [48] y otros [49-51] consideran que las superficies como el cristal o el plástico (lisas), son mejores ya que permiten una mayor transpiración de las secreciones corporales y, por tanto, una mayor presencia de material genético. El estudio de Alketbi y col. [49], el más reciente de los anteriormente citados, parece indicar que las superficies lisas no porosas serían mejores. Sin embargo, deberían llevarse a cabo experimentos con un mayor número de muestras para poder llegar a un consenso [1].

La manera en la que se entra en contacto con la superficie también determinará la cantidad de ADN que se puede obtener. Si durante el contacto se aplica más presión, la deposición de ADN será mayor [12], independientemente del estado de transmisión del sujeto o de la mano que esté empleando. Si además, se añade fricción, los resultados mejoran [38-39]. Si también se utilizan los dedos para el contacto, se podrá transmitir y obtener más ADN [31], debido a que los dedos presentan glándulas sebáceas y, en comparación con la palma de la mano, transmiten y recogen más ADN y de mejor calidad [19;21;40]. Podría ser debido al estrato córneo, que es más delgado en los dedos que en la palma y esto podría permitir una transmisión más eficiente [40]. Además, los dedos se utilizan para contactar continuamente áreas del cuerpo ricas en secreciones, como las orejas, la frente, los ojos, la cara y demás [6;10].

Por otro lado, la transferencia de ADN en la lavadora, de prendas con ADN a prendas sin ADN, ha sido demostrada. A pesar de que Van den Berge [25] postuló que era poco probable dado sus propios resultados, otros autores han sido capaces de obtener perfiles de STR a partir de manchas de sangre, saliva y semen después del lavado [2;15;58;60]. Además, aunque pareciera que los productos de limpieza empleados en dichas máquinas podrían tener un efecto nocivo sobre la molécula de ADN [25;58], Voskoboinik y col. [15] teorizaron que, dado que la mayoría de los productos de limpieza empleados en lavadoras contienen ingredientes como SDS (Dodecilsulfato sódico, un tensioactivo iónico), quelantes y agentes precipitantes, lejos de perjudicar el material genético podrían ayudar a purificarlo, haciéndolo más asequible para la transferencia. Por otro lado, a pesar de que se pensaba que era la lavadora la responsable de esta transferencia, los datos parecen indicar que más que la máquina sería la ropa en sí misma [15]. Algo que fue demostrado por el experimento de Helmus y col. [60] en el que se obtuvieron más alelos transferidos al lavar a mano, que cuando el lavado se hizo a máquina [58]. Por tanto, la transferencia en la lavadora es posible y ha sido demostrada por Voskoboinik y col. [15] y otros [2;58;60]. Sin embargo, se transfiere más ADN cuando la colada se hace a mano [60], algo que Ruan y col. [2] ya teorizaron que podría ocurrir, aunque ellos añadieron que el simple hecho de mezclar ropa limpia con ropa sucia en el cesto de la colada ya podría ser suficiente para que se diera la transferencia [2].

En la intemperie el ADN puede durar décadas [13] y es capaz de generar perfiles completos de STR pasados años [50]. Esto depende de las condiciones en las que se encuentre la muestra [1] y de la persona que la deposita [61]. Si el ambiente es húmedo, el ADN se expone a sufrir oxidaciones debido a radicales libres o escisión hidrolítica de la doble cadena, conduciendo de esta manera a daños irreparables para la viabilidad del ADN [63]. El sol y los ambientes secos también son perjudiciales, pues pueden favorecer la aparición de dímeros de timina o el aumento de la escisión hidrolítica, respectivamente [63]. Por otro lado, cuando este ADN se encuentra bajo las uñas, por ejemplo, podría estar más protegido de entrar en contacto con otros elementos y por tanto podría durar más [13]. No obstante, que esto suceda depende de cómo ha sido el proceso de contacto (si se ha rascado o solo se ha tocado) y dónde se ha tocado, entre otras cosas. Cuando solo se toca, como por ejemplo en el experimento de Flanagan y McAlister [70], el ADN pudo durar hasta 18 horas y generar perfiles informativos, compuestos por mezclas de hombre y mujer. Sin embargo, cuando la zona tocada fue el antebrazo [71] y en vez de tocar se rascó vigorosamente, el tiempo que el ADN pudo ser detectado fue menor. Hay que tener en cuenta que la presencia de fluidos corporales favorece la acumulación de material biológico bajo las uñas [71]. Por este motivo es posible que las muestras procedentes de la vagina perduraran más tiempo que aquellas procedentes del antebrazo.

Algo parecido sucede en la saliva tras un beso. El ADN ajeno puede perdurar en la boca diferentes intervalos de tiempo, dependiendo de la salivación de la persona en cuestión [75]. Kamodyová y col. [75] fueron capaces de encontrar ADN en 8 de las 12 voluntarias 60 minutos después del beso, mientras que Banaschack y col. [76] solo fueron capaces de encontrar ADN hasta 60 segundos después del beso. No obstante, la gran brecha de tiempo que existe entre ambos artículos, así como el desfase a nivel tecnológico, hace que estos trabajos puedan no ser comparables. Por otro lado, la técnica de detección es importante. Cuando Kamodyová y col. [75] utilizaron la técnica del gen SRY y la del STR DYS14, observaron que, tal y como Zimmerman y col. [77] habían apuntado, la segunda da mejores resultados que la primera.

Finalmente, la transferencia secundaria de ADN ha sido demostrada en numerosas ocasiones [2-3;8;14;22;27-28;31;78]. Diferentes autores han informado del hallazgo de alelos extraños, cuyo origen se asoció a la transferencia secundaria. Concretamente, este material genético ajeno se encontró en un rango comprendido entre el 9% y el 79% de las muestras analizadas [2;8;14;22;27-28;31;78]. Por otro lado, algunos investigadores consideran que la transferencia secundaria es poco probable [6;10;19;79]. No obstante, en dos de estos artículos [10;79] se hallaron alelos secundarios, aunque en poca cantidad.

Conclusión

El objetivo de este trabajo era reunir todos los factores conocidos que intervienen en la transferencia y exponerlos con la mayor claridad posible. A pesar de que se han conseguido

importantes avances en el entendimiento de la dinámica de este fenómeno, aún queda camino por recorrer. Se necesitan más investigaciones para que la identificación de individuos mediante el análisis de ADN sea justa y certera. Entre los futuros logros de la tecnología debería incluirse la habilidad para discernir correctamente entre transferencia primaria y secundaria, que podría tener repercusiones de gran calibre en los procesos judiciales que dependan de material genético para condenar a alguien.

En definitiva, se puede concluir que el ADN depositado proviene de secreciones corporales y restos de degradación. Además, un mismo individuo puede fluctuar entre los 3 estados de transmisión a lo largo del tiempo. Los hombres jóvenes transmiten más ADN que el resto de los individuos, y si se aplica presión y fricción durante el contacto se favorecerá aún más la deposición. La naturaleza de la superficie de contacto (rugosa o lisa) es importante, y aunque no existe consenso actualmente, parece ser que son las rugosas las que mejores resultados han ofrecido a lo largo de los años. La transferencia secundaria, además, ha sido demostrada en numerosas ocasiones, y la colada, especialmente la ropa sucia, representan puntos críticos para este fenómeno, ya que las sustancias líquidas transmiten mejor el material genético que las secas, sobretodo si parten de una superficie lisa (plástico o cristal) y se depositan en una rugosa (como el algodón). Finalmente, el ADN puede resistir en la intemperie largos periodos de tiempo, pero los climas secos y húmedos pueden ser muy perjudiciales para esta molécula, dificultando notablemente las labores de perfilado genético. Además, el ADN puede acumularse en las uñas y en la saliva y cuando se analiza, permite generar perfiles de personas ajenas al donante.

Bibliografía

- [1] S. K. Alketbi, "The Affecting Factors of Touch DNA," *J. Forensic Res.*, vol. 9, no. 3, pp. 1–4, 2018.
- [2] T. Ruan, M. Barash, P. Gunn, and D. Bruce, "Investigation of DNA transfer onto clothing during regular daily activities," *Int. J. Legal Med.*, vol. 132, no. 4, pp. 1035–1042, 2018.
- [3] R. A. H. Van Oorschot and M. K. Jones, "DNA fingerprints from fingerprints [6]," *Nature*. p. 767, 1997.
- [4] A. L. Williamson, "Touch DNA: Forensic Collection and Application to Investigations," *J. Assoc Crime Scene Reconstr.*, vol. 1, no. 1–5, 2012.
- [5] F. Oldoni, V. Castella, and D. Hall, "Shedding light on the relative DNA contribution of two persons handling the same object," *Forensic Sci. Int. Genet.*, no. 148–157, 2016.
- [6] R. A. Wickenheiser, "Trace DNA: a review, discussion of theory, and application of the transfer of trace quantities of DNA through skin contact.," *J. Forensic Sci.*, vol. 47, pp. 442–450, 2002.
- [7] R. A. H. van Oorschot, K. N. Ballantyne, and R. J. Mitchell, "Forensic trace DNA: A review," *Investigative Genetics*. pp. 1–17, 2010.
- [8] A. Lowe, C. Murray, J. Whitaker, G. Tully, and P. Gill, "The propensity of individuals to deposit DNA and secondary transfer of low level DNA from individuals to inert surfaces," *Forensic Sci. Int.*, vol. 129, pp. 25–34, 2002.
- [9] D. J. Daly, C. Murphy, and S. D. McDermott, "The transfer of touch DNA from hands to glass, fabric and wood," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 6, pp. 41–46, 2012.
- [10] M. Phipps and S. Petricevic, "The tendency of individuals to transfer DNA to handled items," *Forensic Sci. Int.*, vol. 168, pp. 415–417, 2007.
- [11] M. Poetsch, T. Bajanowski, and T. Kamphausen, "Influence of an individual's age on the amount and interpretability of DNA left on touched items," *Int. J. Legal Med.*, vol. 127, pp.

- 1093–1096, 2013.
- [12] S. H. A. Tobias, G. S. Jacques, R. M. Morgan, and G. E. Meakin, “The effect of pressure on DNA deposition by touch,” *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, vol. Series 6, pp. e12–e14, 2017.
- [13] R. A. H. van Oorschot, B. Szkuta, G. E. Meakin, B. Kokshoorn, and M. Goray, “DNA transfer in forensic science: A review,” *Forensic Science International: Genetics*. pp. 140–166, 2019.
- [14] P. Manoli *et al.*, “Sex-specific age association with primary DNA transfer,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 130, pp. 103–112, 2016.
- [15] L. Voskoboinik, M. Amiel, A. Reshef, R. Gafny, and M. Barash, “Laundry in a washing machine as a mediator of secondary and tertiary DNA transfer,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 132, pp. 373–378, 2018.
- [16] C. M. Cale, “Forensic DNA evidence is not infallible,” *Nature 526 (7575)*. pp. 611–611, 2015.
- [17] T. Peritos, “Tribunales: Peritos apuntan a una transferencia secundaria del ADN del acusado por el lavado de las toallas,” pp. 1–6, 2020.
- [18] F. Alessandrini, M. Cecati, M. Pesaresi, C. Turchi, F. Carle, and A. Tagliabracchi, “Fingerprints as Evidence for a Genetic Profile: Morphological Study on Fingerprints and Analysis of Exogenous and Individual Factors Affecting DNA Typing,” *J. Forensic Sci.*, vol. 48, pp. 586–592, 2003.
- [19] A. A. Oleiwi, M. R. Morris, W. M. Schmerer, and R. Sutton, “The relative DNA-shedding propensity of the palm and finger surfaces,” *Sci. Justice*, vol. 55, pp. 329–334, 2015.
- [20] M. K. Balogh, J. Burger, K. Bender, P. M. Schneider, and K. W. Alt, “Fingerprints from fingerprints,” *Int. Congr. Ser.*, vol. 1239, no. C, pp. 953–957, 2003.
- [21] T. Kita, H. Yamaguchi, M. Yokoyama, T. Tanaka, and N. Tanaka, “Morphological study of fragmented DNA on touched objects,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, 2008.
- [22] M. Goray, S. Fowler, B. Szkuta, and R. A. H. Van Oorschot, “Shedder status - An analysis of self and non-self DNA in multiple handprints deposited by the same individuals over time,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 23, pp. 190–196, 2016.
- [23] I. Quinones and B. Daniel, “Cell free DNA as a component of forensic evidence recovered from touched surfaces,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 6, no. 1, pp. 26–30, 2012.
- [24] E. Fuchs, “Scratching the surface of skin development,” *Nature 445 (7130)*. pp. 834–842, 2007.
- [25] M. Van Den Berge, G. Ozcanhan, S. Zijlstra, A. Lindenbergh, and T. Sijen, “Prevalence of human cell material: DNA and RNA profiling of public and private objects and after activity scenarios,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 21, pp. 81–89, 2016.
- [26] C. J. Ehrhardt, C. E. Stanciu, M. K. Philpott, Y. J. Kwon, and E. E. Bustamante, “Optical characterization of epidermal cells and their relationship to DNA recovery from touch samples,” *F1000Research*, vol. 4, p. 1360, 2015.
- [27] M. Djuric, T. Varljen, A. Stanojevic, and O. Stojkovic, “DNA typing from handled items,”

- Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, vol. 1, no. 1, pp. 411–412, 2008.
- [28] A. E. Fonnelløp, M. Ramse, T. Egeland, and P. Gill, “The implications of shedder status and background DNA on direct and secondary transfer in an attack scenario,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 29, pp. 48–60, 2017.
- [29] P. Kanokwongnuwut, B. Martin, K. P. Kirkbride, and A. Linacre, “Shedding light on shedders,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 36, pp. 20–25, 2018.
- [30] A. Linacre, V. Pekarek, Y. C. Swaran, and S. S. Tobe, “Generation of DNA profiles from fabrics without DNA extraction,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 4 (2), pp. 137–141, 2010.
- [31] B. Szkuta, K. N. Ballantyne, and R. A. H. van Oorschot, “Transfer and persistence of DNA on the hands and the influence of activities performed,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 28, pp. 10–20, 2017.
- [32] J. A. Bright and S. F. Petricevic, “Recovery of trace DNA and its application to DNA profiling of shoe insoles,” *Forensic Sci. Int.*, vol. 145, no. 1, pp. 7–12, 2004.
- [33] “Purificación de ADN (Qiagen QIAamp),” <https://www.qiagen.com/dk/products/discovery-and-translational-research/dna-rna-purification/dna-purification/genomic-dna/qiaamp-dna-blood-mini-kit/#productdetails>.
- [34] D. H. Warshauer, P. Marshall, S. Kelley, J. King, and B. Budowle, “An evaluation of the transfer of saliva-derived DNA,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 126, no. 6, pp. 851–861, 2012.
- [35] R. W. Allen, J. Pogemiller, J. Joslin, M. Gulick, and J. Pritchard, “Identification through typing of DNA recovered from touch transfer evidence: Parameters affecting yield of recovered human DNA,” *J. Forensic Identif.*, vol. 58, no. 1, pp. 33–41, 2008.
- [36] T. Kamphausen, D. Schadendorf, N. Von Wurmb-Schwark, T. Bajanowski, and M. Poetsch, “Good shedder or bad shedder- The influence of skin diseases on forensic DNA analysis from epithelial abrasions,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 126, no. 1, pp. 179–183, 2012.
- [37] A. E. Fonnelløp, T. Egeland, and P. Gill, “Secondary and subsequent DNA transfer during criminal investigation,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 17, pp. 155–162, 2015.
- [38] M. Goray, R. J. Mitchell, and R. A. H. va. Oorschot, “Investigation of secondary DNA transfer of skin cells under controlled test conditions,” *Leg. Med.*, vol. 12, no. 3, pp. 117–120, 2010.
- [39] M. Goray, E. Eken, R. J. Mitchell, and R. A. H. van Oorschot, “Secondary DNA transfer of biological substances under varying test conditions,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 4, no. 2, pp. 62–67, 2010.
- [40] D. L. McColl, M. L. Harvey, and R. A. H. van Oorschot, “DNA transfer by different parts of a hand,” *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, vol. 6, pp. e29–e31, 2017.
- [41] Z. Ya-Xian, T. Suetake, and H. Tagami, “Number of cell layers of the stratum corneum in normal skin relationship to the anatomical location an the body, age, sex and physical parameters,” *Arch. Dermatol. Res.*, vol. 291, no. 10, pp. 555–559, 1999.
- [42] J. P. Whitaker *et al.*, “Short tandem repeat typing of bodies from a mass disaster: High success rate and characteristic amplification patterns in highly degraded samples,” *Biotechniques*, vol. 18, no. 4, pp. 670–677, 1995.

- [43] H. Iizuka, "Epidermal turnover time," *J. Dermatol. Sci.*, vol. 8, no. 3, pp. 215–217, 1994.
- [44] C. M. Pfeifer and P. Wiegand, "Persistence of touch DNA on burglary-related tools," *Int. J. Legal Med.*, vol. 131, no. 4, pp. 941–953, 2017.
- [45] R. A. H. Van Oorschot, G. Glavich, and R. J. Mitchell, "Persistence of DNA deposited by the original user on objects after subsequent use by a second person," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 8, no. 1, pp. 219–225, 2014.
- [46] G. D. Weinstein, J. L. McCullough, and P. Ross, "Cell proliferation in normal epidermis," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 82, no. 6, pp. 623–628, 1984.
- [47] J. J. Raymond, R. A. H. van Oorschot, P. R. Gunn, S. J. Walsh, and C. Roux, "Trace evidence characteristics of DNA: A preliminary investigation of the persistence of DNA at crime scenes," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 4, no. 1, pp. 26–33, 2009.
- [48] M. Pesaresi, L. Buscemi, F. Alessandrini, M. Cecati, and A. Tagliabracci, "Qualitative and quantitative analysis of DNA recovered from fingerprints," *Int. Congr. Ser.*, vol. 1239, pp. 947–951, 2003.
- [49] S. K. Alketbi and W. Goodwin, "The effect of surface type, collection and extraction methods on touch DNA," *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, vol. 7, no. 1, pp. 704–706, 2019.
- [50] A. K. Buckingham, M. L. Harvey, and R. A. H. van Oorschot, "The origin of unknown source DNA from touched objects," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 25, pp. 26–33, 2016.
- [51] A. K. Buckingham, M. L. Harvey, and R. A. H. van Oorschot, "Transfer of picked-up DNA to cotton plates," *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, vol. 6, 2017.
- [52] T. J. Verdon, R. J. Mitchell, and R. A. H. Van Oorschot, "The influence of substrate on DNA transfer and extraction efficiency," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 7, no. 1, pp. 167–175, 2013.
- [53] J. Helmus, T. Bajanowski, and M. Poetsch, "DNA transfer—a never ending story. A study on scenarios involving a second person as carrier," *Int. J. Legal Med.*, vol. 130, no. 1, pp. 121–125, 2016.
- [54] C. I. Weidner *et al.*, "Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites," *Genome Biol.*, vol. 15, no. 2, p. R24, 2014.
- [55] G. N. Stamatias, J. Nikolovski, M. A. Luedtke, N. Kollias, and B. C. Wiegand, "Infant skin microstructure assessed in vivo differs from adult skin in organization and at the cellular level," *Pediatr. Dermatol.*, vol. 27, no. 2, pp. 125–131, 2010.
- [56] D. G. A. Burton, "Cellular senescence, ageing and disease," *Age (Omaha)*, vol. 31, no. 1, pp. 1–9, 2009.
- [57] L. Eckhart, S. Lippens, E. Tschachler, and W. Declercq, "Cell death by cornification," *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research Vol. 1833 (12)*, pp. 3471–4380, 2013.
- [58] T. Kamphausen, S. B. Fandel, J. S. Gutmann, T. Bajanowski, and M. Poetsch, "Everything clean? Transfer of DNA traces between textiles in the washtub," *Int. J. Legal Med.*, vol. 129, no. 4, pp. 709–714, 2015.

- [59] S. Noël *et al.*, “DNA transfer during laundering may yield complete genetic profiles,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 23, pp. 240–247, 2016.
- [60] J. Helmus, S. Zorell, T. Bajanowski, and M. Poetsch, “Persistence of DNA on clothes after exposure to water for different time periods—a study on bathtub, pond, and river,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 132, no. 1, pp. 99–106, 2018.
- [61] A. Lowe *et al.*, “Use of low copy number DNA in forensic inference,” *Int. Congr. Ser.*, vol. 1239, pp. 799–801, 2003.
- [62] T. W. Bille, C. Cromartie, and M. Farr, “Effects of cyanoacrylate fuming, time after recovery, and location of biological material on the recovery and analysis of DNA from post-blast pipe bomb fragments,” *J. Forensic Sci.*, vol. 54, no. 5, pp. 1059–1067, 2009.
- [63] H. N. Poinar, “The top 10 list: Criteria of authenticity for DNA from ancient and forensic samples,” *Int. Congr. Ser.*, vol. 1239, pp. 575–579, 2003.
- [64] J. J. Raymond, S. J. Walsh, R. A. H. van Oorschot, P. R. Gunn, L. Evans, and C. Roux, “Assessing trace DNA evidence from a residential burglary: Abundance, transfer and persistence,” *Forensic Sci. Int. Genet. Suppl. Ser.*, vol. 1, no. 1, pp. 442–443, 2008.
- [65] T. Lederer, P. Betz, and S. Seidl, “DNA analysis of fingernail debris using different multiplex systems: A case report,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 114, no. 4–5, pp. 263–266, 2001.
- [66] P. Wiegand, T. Bajanowski, and B. Brinkmann, “DNA typing of debris from fingernails,” *Int. J. Legal Med.*, vol. 106, no. 2, pp. 81–83, 1993.
- [67] S. A. Harbison, S. F. Petricevic, and S. K. Vintiner, “The persistence of DNA under fingernails following submersion in water,” *Int. Congr. Ser.*, vol. 1239, no. C, pp. 809–813, 2003.
- [68] S. Malsom, N. Flanagan, C. McAlister, and L. Dixon, “The prevalence of mixed DNA profiles in fingernail samples taken from couples who co-habit using autosomal and Y-STRs,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 3, no. 2, pp. 57–62, 2009.
- [69] S. K. V. A.R. Henderson, K. Lai, T.E.B. Power, O.J. Samson, S.E. Scott, “Prevalence of foreign DNA under fingernails, in: Proceedings of the 17th International Symposium on the Forensic Sciences, “Challenges and Changes”, Wellington, NZ, 2004.”
- [70] N. Flanagan and C. McAlister, “The transfer and persistence of DNA under the fingernails following digital penetration of the vagina,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 5, no. 5, pp. 479–483, 2011.
- [71] M. Matte, L. Williams, R. Frappier, and J. Newman, “Prevalence and persistence of foreign DNA beneath fingernails,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 6, no. 2, pp. 236–243, 2012.
- [72] S. V. K. Lai, O. Samson, “An evaluation of the routine DNA analysis of fingernail debris in forensic casework, in: Proceedings of the 17th International Symposium on the Forensic Sciences, “Challenges and Changes”, Wellington, NZ, 2004.”
- [73] M. Kettner, S. Cappel-Hoffmann, D. Makuch, P. Schmidt, and F. Ramsthaler, “IPV - Bridging the juridical gap between scratches and DNA detection under fingernails of cohabitating partners,” *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 14, pp. 110–115, 2015.
- [74] E. A. Dowlman, N. C. Martin, M. J. Foy, T. Lochner, and T. Neocleous, “The prevalence

- of mixed DNA profiles on fingernail swabs," *Sci. Justice*, vol. 50, no. 2, pp. 64–71, 2010.
- [75] N. Kamodyová *et al.*, "Prevalence and persistence of male DNA identified in mixed saliva samples after intense kissing," *Forensic Sci. Int. Genet.*, vol. 7, no. 1, pp. 124–128, 2013.
- [76] S. Banaschak, K. Möller, and H. Pfeiffer, "Potential DNA mixtures introduced through kissing," *Int. J. Legal Med.*, vol. 111, no. 5, pp. 284–285, 1998.
- [77] B. Zimmermann, A. El-Sheikhah, K. Nicolaidis, W. Holzgreve, and S. Hahn, "Optimized real-time quantitative PCR measurement of male fetal DNA in maternal plasma," *Clin. Chem.*, vol. 51, no. 9, pp. 1598–1604, 2005.
- [78] C. M. Cale, M. E. Earll, K. E. Latham, and G. L. Bush, "Could Secondary DNA Transfer Falsely Place Someone at the Scene of a Crime?," *J. Forensic Sci.*, vol. 61, no. 1, pp. 196–203, 2016.
- [79] C. Ladd, M. S. Adamowicz, M. T. Bourke, C. A. Scherczinger, and H. C. Lee, "A Systematic Analysis of Secondary DNA Transfer," *J. Forensic Sci.*, vol. 44, no. 6, pp. 1270–1272, 1999.