

Prelevarea și interpretarea criminalistică prin genotipare judiciară a microurmelor biologice de contact în cazul omuciderilor prin strangulare

Dragomir Elena^{*1}, Orășteanu Alina¹

Abstract: Forensic genotyping of biological contact microtraces in strangulation cases.

Microtraces category opened new investigation possibilities of some offences, in most cases, difficult to prove. For example, the remaining microtraces after the contact between an object and a person's epithelial tissue (skin) or after the pressure exertion of the offender's hands on the victim's tegument (strangulation using hands or other objects as: belts, cables, ropes, etc.), represent an important source for traces, used in solving difficult crimes with social impact.

In our study, we pursued solving two murder cases (strangulation using a belt, strangulation using hands) using biological microtraces(epithelial cells) picked up from the crime scenes. The remaining contact traces (epithelial cells) on the belt picked up from the victim's neck (belt strangulation) and microtraces sampled using cotton swabs from the victim's neck(hand strangulation) have been quantified using RT-PCR method and for genotyping was used the **AMPFistr Identifier** - Multiplex kit. The resulting amplicons were analysed using the ABI-Prism 3100 Genetic Analyser.

Key words: DNA typing, microtraces, strangling,

În ultimele două secole, societatea omenească a cunoscut cinci revoluții științifice: a laburului, a combustibilului fosil, a electricității, a microprocesoarelor și a științelor biologice - pe care o trăim chiar azi.

Progresele rapide făcute în cercetarea genomului uman și deosebitul potențial aplicativ i-au determinat pe oamenii de știință să considere genetica una dintre cele mai importante discipline ale secolului XXI.

Aplicațiile potențiale curente ale cercetării genomului includ medicina moleculară, evaluarea riscului apariției bolilor genetice ale fătului, în domeniul judiciar, bioarheologiei, evoluției și al migrației umane, antropologiei, s.a.

Locii STR (short tandem repeats) sunt secvențe ADN- repetitive în tandem, ușor multiplicabile prin reacția polimerizării în lant (PCR- polymerase chain reaction) și cu un înalt grad de polimorfism. În același timp, alelele locilor STR (forme alternative ale aceleasi gene) prezintă o mare stabilitate în decursul generațiilor. Aceste caracteristici fac din locii STR

**) Corresponding author: police inspector, biologist, Inspectoratul General al Poliției Române, Institutul de Criminalistică, Sos. Stefan cel Mare nr.13-15, sector 2, Bucuresti, Romania, E-mail: dragile10@yahoo.com*

markeri valoroși în procesele de identificare de persoane, cu aplicații în medicina legală și studiile antropologice (Edwards A, 1991, Budowle B, 1998).

Pentru determinarea profilului genetic al unei persoane se folosesc mai mulți markeri sau loci, localizați pe minisateliți ai diferiților cromozomi, aceștia neconținând informație medicală. Cu cât sunt utilizați mai mulți markeri cu atât mai mică este probabilitatea ca doi indivizi să posede genotipuri identice. Această afirmație este susținută de calculele biostatistice ce au la bază regula produsului probabilităților alelelor locilor analizați. Fundamentul științific constă în alegerea markerilor genetici ce se află pe cromozomi diferiți, moștenirea alelelor genitorilor fiind un fenomen supus legii segregării caracterelor.

Interacțiunea om-mediu inconjurator da naștere la cele mai diferite urme care la nevoie, pot fi utilizate la stabilirea timpului ori producerii anumitor evenimente, precum și la determinarea comportamentului uman în acest proces.

Se poate spune, deci, ca orice activitate a omului desfășurată în timp și spațiu, prin mișcări fizice, lasă în locul respectiv diverse modificări față de situația anterioară, care se păstrează pe o durată apreciabilă în timp.

În sens restrâns, urma este o reproducere a construcției exterioare a unui obiect pe suprafața sau în volumul obiectului cu care a venit în contact. Asadar, sub aspect criminalistic, se poate considera ca prin urmă se înțelege orice modificare produsă la locul faptei, ca rezultat material al activității persoanelor implicate în comiterea acesteia și este utilă cercetării criminalistice.

Concomitent cu dezvoltarea posibilităților de cercetare, microurmele își găsesc locul lor cuvenit în știința criminalistică precum și în practica de combatere a criminalității. Noțiunea de „urmare” a fost deja definită în mod univoc în știința criminalistică fiind și bine cunoscută. Prefixul „micro” provine de la cuvântul din limba greacă „mikros” având două semnificații: „micro” poate însemna mic, foarte mic sau mărunț iar în a doua accepțiune „micro” înseamnă a milioana parte a unei unități de bază. Într-o astfel de accepțiune microurmele înseamnă urme mici sau foarte mici. Acestea constituie o parte integrantă a urmelor existente, cu toate caracteristicile lor importante, deosebindu-se prin mărimea lor. Prin urmare microurmele pot fi definite ca fiind particule de materie sau caracteristici mecanice invizibile sau slab vizibile cu ochiul liber, putând fi cercetate numai prin folosirea metodelor microanalitice. În cazul unor infracțiuni îndreptate asupra vieții, integrității corporale și sănătății persoanei putem identifica atât pe corpul infractorului sau al victimei cât și pe obiectele folosite de acestea sau pe îmbrăcăminte, fragmente de țesuturi biologice ca: sânge, țesuturi epiteliale, musculare, grase, țesut nervos.

Categoria microurmelor a deschis noi posibilități de investigare a unor infracțiuni, în cele mai multe cazuri, greu de probat. De exemplu, microurmele remanente după contactul dintre un obiect și țesutul epitelial (pielea) al unei persoane sau după exercitarea unei presiuni a mainilor agresorului pe tegumentul victimei (strangulare prin folosirea mâinilor sau a diverselor obiecte cum ar fi: curele, lațuri, etc.), pot reprezenta o sursă importantă de probe, utilizată în rezolvarea unor infracțiuni cu impact deosebit. Forțele mecanice de presiune și frecare, exercitate la contactul dintre diferite obiecte și țesutul epitelial permit transferul de material biologic de contact (microurme constituite din celule ale stratului epitelial superficial) între cele două suprafețe de contact.

Transferul de microurme biologice dintre două suprafețe ce vin în contact oferă suficient material necesar pentru utilizarea metodelor de genetică judiciară. ADN-ul conținut de celulele epiteliale transferate poate fi folosit cu succes în vederea obținerii profilului genetic al agresorului care a lăsat material biologic pe suprafața corpului victimei.

Țesuturile biologice au o mare însemnătate pentru identificarea persoanelor, prin genotipare judiciară. De aceea, sunt foarte importante căutarea, identificarea, prelevarea și conservarea urmelor de contact (celule epiteliale remanente pe gâtul victimei).

În cazul infracțiunilor de omor comise prin strangulare, autorul exercita o forta de compresiune asupra gâtului victimei. În urma acestei acțiuni, pe gâtul acesteia rămâne o cantitate variabilă de microurme (celule epiteliale desprinse de pe tegumentul mainilor autorului), care pot fi valorificate prin genetica judiciară. Aceste microurme sunt suprapuse pe tegumentul gâtului victimei. De aceea, este foarte important modul de prelevare a acestor microurme, întrucât împreună cu acestea, pot fi prelevate și celule din epiteliul victimei, caz în care, în urma genotipării se va obține un amestec de profile genetice între victima și autor.

Pentru o valorificare judiciară cât mai eficientă, prelevarea urmelor de contact de pe gâtul victimei, se realizează prin folosirea tampoanelor sterile din bumbac, umezite cu apă sterilă. Tamponul se trece ușor pe suprafața pe care se constată că a avut loc strangularea victimei, în acest mod realizându-se transferul de material biologic de pe gâtul victimei pe suportul din bumbac. Acest transfer nu este selectiv, deoarece odată cu celulele epiteliale ale autorului, are loc și transfer de celule epiteliale din tegumentul victimei. Sunt cazuri însă, când prelevarea poate fi selectivă, în sensul că autorul „lasă” suficient material biologic pe gâtul victimei, încât pe tamponul din bumbac sunt transferate doar microurmele create de autor. După prelevare, este foarte important ca tamponul steril umezit să fie uscat și ambalat corespunzător, deoarece umezeala este un factor favorizant pentru dezvoltarea bacteriilor care degradează materialul celular și ADN-ul conținut de acesta.

În același mod se procedează și în cazul în care agresorul utilizează pentru strangularea victimei diverse obiecte care vin în contact direct cu gâtul acesteia (curea, sfoară, cablu, esarfe, alte obiecte textile etc.).

Cazul 1: Asfixie mecanică prin strangulare

Organul de cercetare penală a dispus o rezoluție motivată într-o cauză de omor prin strangulare cu lațul, în vederea efectuării unei constatări tehnico-științifice biocriminalistice.

Am procedat la examinarea de laborator a probelor puse la dispoziție în cauza de mai sus: proba în litigiu – o curea cu care a fost strangulată victima A.C.; probele biologice de referință recoltate de la victima A.C. și suspectul S.M.

Ca material biologic s-au utilizat urme de contact (celule epiteliale) remanente pe cureaua ridicată din jurul gâtului victimei.

Din urmele biologice prelevate de pe curea (fața externă și cea internă) – **foto nr. 1** - au fost realizate frotiuri fixate cu alcool metilic și colorate cu hematoxilină-eozină. Examinarea frotiurilor s-a făcut la microscop cu obiectiv de 100X prin imersie în lumina artificială.

S-au pus în evidență **celule epiteliale**, fapt pentru care s-a procedat la analiza genetică a urmelor de contact folosind tehnica de identificare genetică umană bazată pe amplificarea STR, urmată de analiza fragmentelor ADN folosind sistemul „Genetic Analyzer ABI Prism 3100” și softurile de identificare a alelelor „GeneScan și Genotyper”.

Materialul biologic a fost supus extracției ADN, amplificării locilor STR și analizării alelelor obținute.

Extracția ADN din urmele de contact prelevate de pe cureaua cu care a fost strangulată victima, precum și din probele biologice de referință (sânge) recoltate de la victima A.C. și suspectul S.M. a fost efectuată folosind rășina chelex.

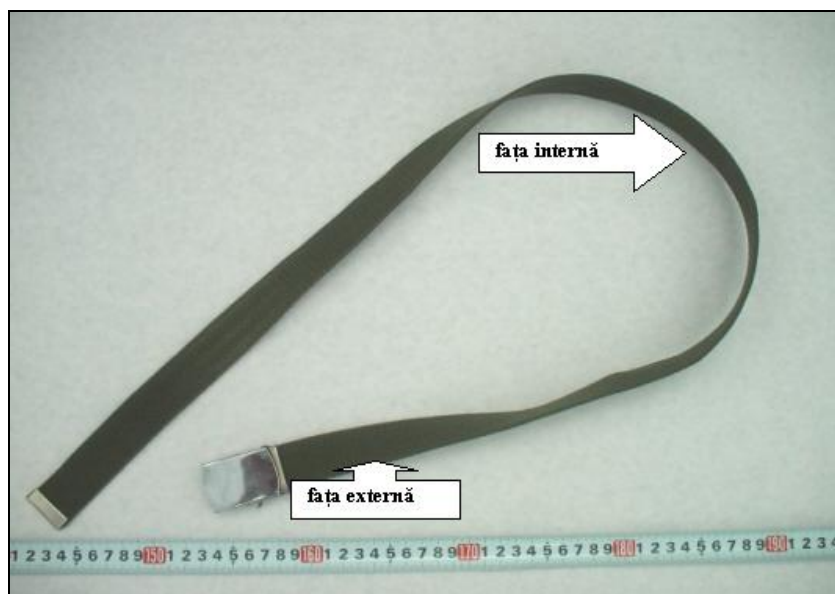


Fig.1 Cureaua de pe care s-au prelevat microurme (fața externă, fața internă)

Cuantificarea ADN-ului extras a fost realizată prin amplificarea monolocus cu instrumentul Fast Real Time PCR (Applied Biosystems, USA) utilizând kitul TaqMan Fast Univ PCR. Extractele cu un conținut de ADN matriță detectabil au fost amplificate folosind kitul Multiplex ABI - „Identifiler” (D3S1358, VWA, D16S539, D2S1338, Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433,

THO1, FGA, D7S820, CSF1PO, D13S317, TPOX, D5S818) utilizând Termocycler 9700 (PE).

Analiza fragmentelor de ADN multiplicare, corespunzătoare locilor respectivi, a fost efectuată cu analizorul ABI 3100 (Applied Biosystems).

Analizele genetice corespunzătoare locilor kitului „Identifiler” (D3S1358, VWA, D16S539, D2S1338, Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, THO1, FGA, D7S820, CSF1PO, D13S317, TPOX, D5S818) ale ADN-ului extras din **probele biologice de referință (sânge)**, recoltate de la victimă și suspect, au evidențiat profilele genetice ale acestora.

Analizele genetice corespunzătoare locilor kitului „Identifiler” (D3S1358, VWA, D16S539, D2S1338, Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, THO1, FGA, D7S820, CSF1PO, D13S317, TPOX, D5S818) ale ADN-ului extras din urmele de contact prelevate de pe cureaua înaintată (proba nr.1 –fața externă și proba nr.2 – fața internă), au evidențiat profile genetice individuale.

Alelele profilelor celor două persoane (victimă și suspect), pentru cei 16 loci utilizați, au fost identificate prin comparație cu benzile unei scări alelice furnizate de producător împreună cu kitul de amplificare (**AmpF/STR Identifiler**).

Pentru a determina frecvența profilului genetic, obținut din proba nr. 1 (curea – fața externă), identic cu cel al suspectului SM, s-a folosit softul POPSTATS, furnizat de FBI.

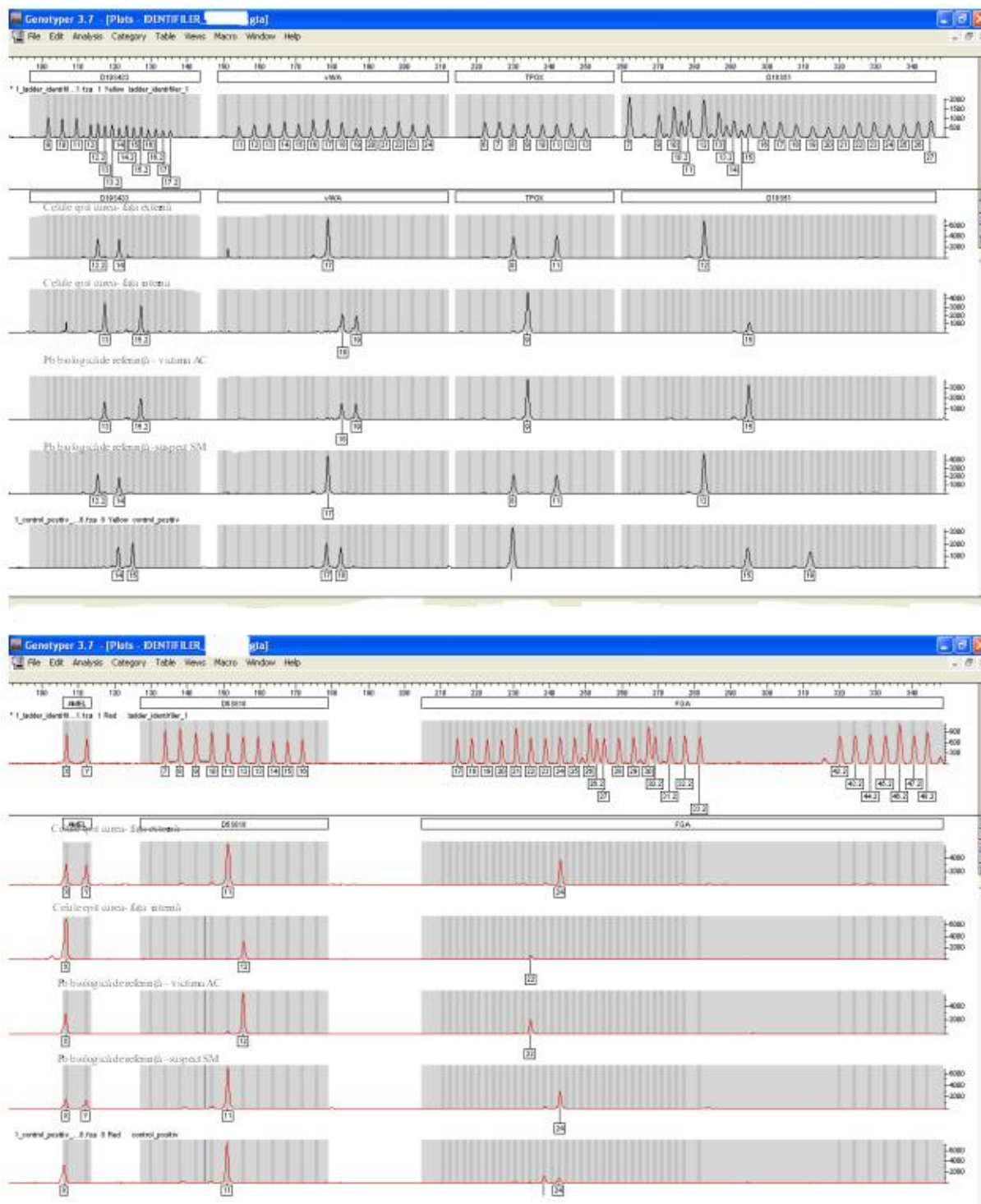
Frecvența de regăsire a acestui profil genetic este de $1,25 \times 10^{-23}$. Grupul populațional în care acest profil genetic este unic: 8×10^{22} .

Cazul 2: Asfixie mecanică prin sugrumare

Intr-un alt caz relevant pentru identificarea prin genotipare judiciară a agresorului, organul de cercetare penală a dispus o rezoluție motivată într-o cauză de omor prin strangulare cu mâna, pentru efectuarea unei constatări tehnico-științifice biocriminalistice.

Am procedat la examinarea de laborator a probelor puse la dispoziție în cauza de mai sus: **proba în litigiu** – un tampon de bumbac cu care s-au prelevat urme de contact recoltate de pe gâtul victimei; **probele biologice de referință** recoltate de la victima G.M. și suspectul L.D.

Fig. 2 Electroforegrama (partiala) cazul nr. 1 - omor prin strangulare



Alelele celor două persoane (victima și suspect), pentru cei 16 loci utilizați, au fost identificate prin comparație cu benzile unei scări alelice furnizate de producător împreună cu kitul de amplificare (**AmpF/STR Identifiler**).

Profilul genetic al ADN-ului extras din proba biologică de referință recoltată de la suspectul L.D. a fost regăsit și inclus în amestecul de profile genetice al ADN-ului extras din urmele de contact prelevate de pe gâtul vicimei, alături de cel obținut din ADN-ul extras din proba biologică de referință recoltată de la victima G. M.

Tabel 2 Tabelul cu cei 16 loci STR - cazul nr. 1 - omor prin strangulare

Proba	Marker	Al. 1	Al. 2	suspect S.M.		
cel epit. curea - fața externă	D8S1179	15	16	D8S1179	15	16
	D21S11	31,2	33,2	D21S11	31,2	33,2
	D7S820	8	8	D7S820	8	8
	CSF1PO	10	12	CSF1PO	10	12
	D3S1358	15	15	D3S1358	15	15
	TH01	9	9,3	TH01	9	9,3
	D13S317	9	12	D13S317	9	12
	D16S539	11	14	D16S539	11	14
	D2S1338	19	20	D2S1338	19	20
	D19S433	12,2	14	D19S433	12,2	14
	vWA	17	17	vWA	17	17
	TPOX	8	11	TPOX	8	11
	D18S51	12	12	D18S51	12	12
	AMEL	X	Y	AMEL	X	Y
	D5S818	11	11	D5S818	11	11
	FGA	24	24	FGA	24	24
Proba	Marker	Al. 1	Al. 2	victima A.C.		
cel. epit.curea- fața internă	D8S1179	11	12	D8S1179	11	12
	D21S11	29	31	D21S11	29	31
	D7S820	10	10	D7S820	10	10
	CSF1PO	11	12	CSF1PO	11	12
	D3S1358	15	18	D3S1358	15	18
	TH01	7	8	TH01	7	8
	D13S317	9	12	D13S317	9	12
	D16S539	10	11	D16S539	10	11
	D2S1338	25	25	D2S1338	25	25
	D19S433	13	15,2	D19S433	13	15,2
	vWA	18	19	vWA	18	19
	TPOX	9	9	TPOX	9	9
	D18S51	15	15	D18S51	15	15
	AMEL	X	X	AMEL	X	X
	D5S818	12	12	D5S818	12	12
	FGA	22	22	FGA	22	22

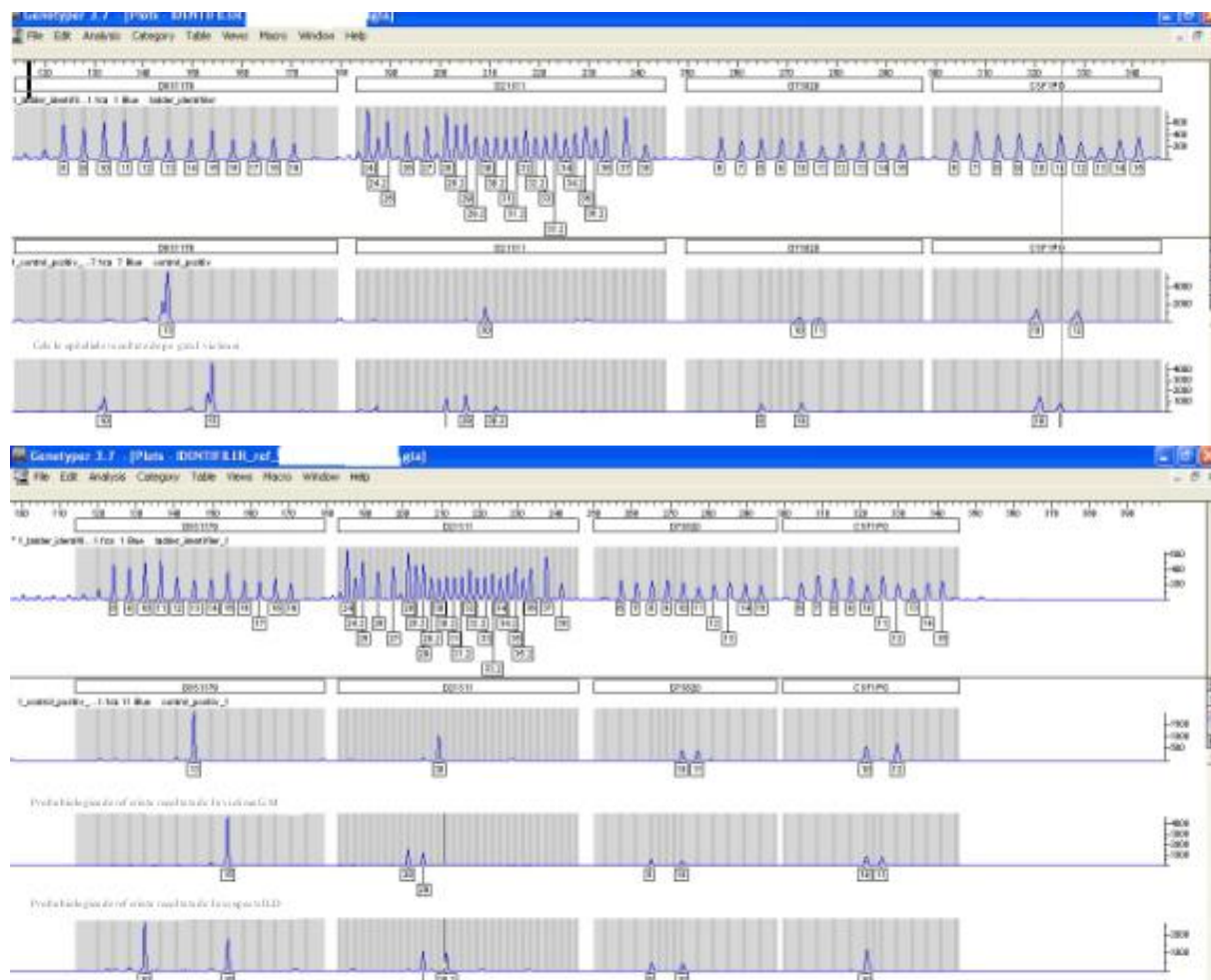
Pentru interpretarea acestui rezultat au fost formulate două ipoteze:

- Ipoteza acuzării: suspectul L.D.** este contributor la amestecul de profile genetice al ADN-ului extras din urmele de contact prelevate de pe gâtul victimei, alături de profilul genetic al ADN-ului extras din proba biologică de referință recoltată de la victima G.M.;
- Ipoteza apărării:** nu există o legătură de origine între amestecul de profile genetice al ADN-ului extras din urmele de contact prelevate de pe gâtul victimei și profilul genetic al **suspectului L.D.**, deci nu acesta a fost contributor la crearea urmei respective, ci o altă persoană necunoscută, care în combinație cu ADN-ul extras din proba biologică de referință recoltată de la victima G.M., să determine obținerea aceluiași amestec de profile genetice.

În urma calculelor de biostatistică aferente și al raportului dintre ipoteza i. și ii. se poate concluziona că prima ipoteză, ca suspectul L.D. să fie contributor la amestecul de profile genetice al ADN-ului extras din urmele de contact identificate pe gâtul victimei este de $2,94 \times 10^8$ mai posibilă decât a doua ipoteză, aceea ca în amestecul respectiv să fie prezentă o altă persoană diferită de suspectul L.D., care împreună cu profilul genetic al victimei, să determine obținerea aceluiași amestec de profile genetice.

Altfel spus, o altă persoană necunoscută din populația studiată al cărei profil genetic, în combinație cu profilul genetic al victimei G.M., care să determine obținerea aceluiași amestec, poate fi regăsită la un număr mai mare de 294 milioane persoane.

Fig. 3 Electroforegrama (partiala) cazul nr. 2 - omor prin sufragare



Tabel 3 Tabelul cu cei 16 loci STR - cazul nr. 2 - omor prin sufragare

Proba	Locus	Alela 1	Alela 2	Alela 3	Alela 4	G.M			L.D	
T2113381401_fir_par	D8S1179	10	15			D8S1179	15	15	10	15
	D21S11	28	29	30,2		D21S11	28	29	29	30,2
	D7S820	8	10			D7S820	8	10	8	10
	CSF1PO	10	11			CSF1PO	10	11	10	10
	D3S1358	15	16			D3S1358	15	16	15	16
	TH01	6	9	9,3		TH01	9	9,3	6	9,3
	D13S317	9	11	12		D13S317	11	12	9	12
	D16S539	11	12	14		D16S539	12	14	11	12
	D2S1338	17	18	24		D2S1338	17	18	17	24
	D19S433	14	15	16	16,2	D19S433	14	16,2	15	16
	vWA	16	18	19		vWA	16	18	16	19
	TPOX	8	8			TPOX	8	8	8	8
	D18S51	13	14	19		D18S51	13	14	14	19
	AMEL	X	Y			AMEL	X	X	X	Y
	D5S818	11	12			D5S818	11	12	12	12
	FGA	20	22	23	26	FGA	22	26	20	23

Concluzii

Pentru obținerea unor rezultate optime ar fi necesară cunoașterea, respectiv calcularea timpului cât au venit în contact, agresorul și corpul victimei, cu obiectul corp delict. De asemenea, este util a se cunoaște cât timp a acționat în mod direct suspectul asupra gâtului victimei, de acest factor depinzând cantitatea de microurme biologice remanente ce urmează a fi supusă analizelor genetice.

Totodată, pentru situația în care materialul biologic a fost prelevat de pe suprafețele diverselor obiecte folosite de agresori (curele, sfori, cabluri, diverse fragmente textile, etc) în cazul omuciderilor prin strangulare cu lațul, există posibilitatea unei prelevări selective, iar rezultatul final, în urma genotipării judiciare, constă în obținerea de profile genetice individuale.

În cazul strangulării cu mâinile, celulele epiteliale provenite de la agresor sunt prelevate neselectiv, împreună cu cele de la victimă. În urma genotipării acestor microurme se va obține, în general, un amestec de profile genetice, în care se regăsesc atât suspectul cât și victima, motiv pentru care, prin calcule de biostatistică se stabilește șansa ca suspectul să fie contributor la crearea amestecului respectiv.

Se poate concluziona că prin genetica judiciară se pot valorifica cu succes microurme dificil de exploatat prin alte metode, astfel realizându-se identificarea directă a persoanelor care au comis infracțiuni de omor.

Bibliografie

1. Genetica Judiciara, Potorac Romica si Potarac Magda-Sorina, Editura Etea, 2005 Bucuresti
2. Forensic DNA Typing, John M. Butler, Editura Academic Press, 2001
3. Microurmele, Dr. Gheorghe Popa, Editura Sfinx, 2000, Bucuresti
4. Urmele – obiect de studiu al Criminalisticii (Master European), conf. Univ. Dr. Dan Voinea, conf. Univ. Dr. Gheorghe Popa, expert criminalist Lazureanu Crisan, Editura Era, 2006, Bucuresti
5. Exploatarea urmelor prin expertize criminalistice (note de curs), conf. Univ. Dr. Gheorghe Popa, expert criminalist Nicolae Buzatu, expert criminalist Gheorghe Hanga, expert criminalist Octavian Conicescu