



# SABER, arte y técnica

Minerva. Saber, Arte y Técnica

**AÑO 1 / VOL. 2 DICIEMBRE DE 2017**

ISSN en línea 2545-6245

ISSN impreso 2591-3840

# Revisión en el uso de metodologías DE IDENTIFICACIÓN INDIRECTAS de grupos sanguíneos para el cotejo DE MUESTRAS PERICIALES.

## LA NECESIDAD DE SU REEMPLAZO POR TÉCNICAS DE ADN FORENSE

REVISION IN THE USE OF INDIRECT IDENTIFICATION METHODOLOGIES OF BLOOD GROUPS FOR THE COUNTING OF EXPERT SAMPLES. THE NEED FOR HIS REPLACEMENT BY FORENSIC DNA TECHNIQUES.

Juan Osvaldo RONELLI / [juanronelli@yahoo.com.ar](mailto:juanronelli@yahoo.com.ar).

Nadia CARBALLO / [nadinadin@yahoo.com.ar](mailto:nadinadin@yahoo.com.ar).

Yamila TONDA / [vane679@yahoo.com](mailto:vane679@yahoo.com).

Jorge Osvaldo OSSOLA / [jorgeossola@yahoo.com](mailto:jorgeossola@yahoo.com).

FECHA DE RECEPCIÓN: 15/02/2017

FECHA DE ACEPTACIÓN: 14/10/2017

**Juan Osvaldo RONELLI:** Mg. en Higiene y Seguridad Ocupacional. Especialista en Protección Ambiental. Prof. en Cs. Biológicas y Químicas. Lic. En Criminalística. Perito en Balística y Documentología. Director, Coordinador y Profesor del IUPFA. Perito Químico de la PFA.

**Nadia CARBALLO:** Profesora en Cs. Biológicas. Técnica en Investigaciones Periciales. Perito Químico de la PFA.

**Yamila TONDA:** Licenciada en Criminalística. Técnica Química. Perito Químico de la PFA. [vane679@yahoo.com](mailto:vane679@yahoo.com).

**Jorge Osvaldo OSSOLA:** Dr. en Química Biológica. Director de Carreras del Área Criminalística del IUPFA. Perito Químico de la PFA.

Se expresa especial reconocimiento a: Comisario Fernando Fabián VERA, Jefe de la División Laboratorio Químico de la Policía Federal Argentina; y al personal de la misma Unidad de Trabajo que se detalla, Subinspector Juan DE SETA y Lic. Julián FERREIRO, del Área de ADN; Sargento Lic. Mariana IANNICELLI y al Auxiliar Superior Lic. Eugenia MORRONE del Área Química Biológica y a la Lic. Cecilia BORDENABE del Servicio de Hemoterapia del Complejo Médico Policial Churrucá-Visca.

### Resumen

Actualmente en algunos laboratorios forenses las muestras biológicas provenientes de hechos criminales o levantamientos periciales se analizan con el fin de establecer de forma indirecta su grupo y de forma directa su grupo y factor en el sistema antigénico ABO y Rh respectivamente, para su cotejo a fin de establecer un resultado que sea de utilidad en el esclarecimiento de un hecho criminal. En el presente artículo se expone la relativa y frecuentemente inexacta información

que se obtiene del análisis de los mismos, poniendo en duda la utilidad que aportan a la causa criminal que se investiga, lo que provoca que las solicitudes periciales para determinar grupo y factor sanguíneo no resulten concluyentes en el proceso penal, recayendo por tal, dentro de la categoría de un estudio arcaico u orientativo, reservando su efectividad únicamente al plano médico-sanitario.

El presente trabajo pretende demostrar que la degradación del sistema de antígenos de membrana ABO se produce dada la gran cantidad de variables ambientales que pueden afectar a las muestras previas a su levantamiento, posibles contaminaciones externas producto de la mala manipulación, preservación y proceso de embalaje, degradación microbiana o también la posibilidad de que personas secretoras que puedan haber estado en contacto con las mismas. Además existen deficiencias metodológicas y técnicas, que refuerzan y dan sustento aún más a la ineficiencia resolutoria que poseen los resultados de reconstrucción de grupo y factor como herramienta auxiliar de utilidad para resolver casos criminales. Con el advenimiento de la tecnología molecular aplicada al campo forense se pueden obtener resultados categóricos a partir del análisis de ADN.

## Palabras Clave

Pericias de grupos sanguíneos, pericias de ADN, absorción-elusión, reconstrucción de grupo y factor.

## Abstract

Currently, in some forensic laboratories the biological samples stemming from criminal acts or relevant expertise are analyzed with the aim of indirectly establishing their blood group and directly establishing their blood group and factor in the antigenic system ABO and RH factor respectively. A comparison is done in order to set a useful result for the clarification of a criminal act. In this article is exposed the relative and frequently inexact information that is obtained from the analysis of the latter, questioning the utility that they provide to the criminal cause being investigated, provoking that forensic request that determinate blood group and blood factor do not always result conclusive in the criminal proceeding, reverting to the category of an archaic or orientative study, leading its effectiveness only to the medical-sanitarian level.

This work aims to prove that the degradation of the antigen system of the ABO membrane is produced due to the great amount of environmental variables that may affect the samples before they are lifted. Possible external contamination owing to the poor handling, preservation and process of packing, microbial degradation and also the possibility that secreting people that could have been in contact with the samples. Besides, methodological and technical deficiencies exist, reinforcing and supporting even more the resolute inefficiency that the results of the blood group and factor reconstruction possess as a useful auxiliary tool to solve criminal cases. With the advent of the molecular technology applied to the forensic field, categorical results can be obtained from the DNA analysis.

## Keywords

Blood group expertise, DNA expertise, absorption-elusion, group reconstruction and factor.

## 1. Introducción

En investigación criminal las manchas biológicas presentes en la escena del crimen representan los indicios de mayor interés médico-legal para la resolución de investigaciones judiciales. Pitarch, Pascual y otros (2010) otorgan una gran importancia a los mismos, dada su habitual presencia en el lugar del hecho y la gran cantidad de datos que puedan proporcionar. A partir del estudio y caracterización de estas evidencias se puede conocer: cómo han sucedido los

hechos, cuál ha sido la cronología de los mismos, cuántas personas han intervenido, cómo ha sido su participación, qué objetos y cómo se han utilizado, cuál ha sido la causa de la muerte e individualizar tanto víctimas como victimarios, siendo este último uno de los fines más importantes de la criminalística actual, prestando auxilio a la justicia y dilucidando con sus estudios el esclarecimiento de hechos criminales.

El propósito del presente trabajo es demostrar que la determinación indirecta de grupo sanguíneo del Sistema ABO y su posterior comparación de muestras biológicas de índole forense, tienen una validez relativa dado que se pueden obtener resultados erróneos por distintos motivos: causas inherentes a las muestras, deficiencias metodológicas y/o técnicas:

**a. Causas inherentes a las muestras:** Los grupos fenotípicos A, B y AB, pueden llegar a comportarse como grupo fenotípico O, o no arrojar un resultado concluyente por múltiples factores. Debido a la inestabilidad que poseen los eritrocitos fuera de los vasos sanguíneos, estos resultan susceptibles de ser degradados (por factores abióticos y bióticos propios del ambiente: microorganismos, temperatura, humedad, etc.) provocando así, la pérdida o alteración de los antígenos A y/o B de sus membranas plasmáticas.

Para el caso del antígeno factor Rh en sangre seca resulta difícil su obtención mediante la técnica indirecta debido a su inestabilidad, por tal motivo no se lleva a cabo en nuestro laboratorio. La caracterización del factor Rh no es de utilidad en el caso de la reconstrucción del mismo debido a que en un alto porcentaje de los casos se pierde y siendo además poco útil para el cotejo de muestras. El factor Rh sí es considerado en el caso de muestras de sangre fresca y recientemente extraída (conservadas adecuadamente).

Además en el caso de la investigación del sistema ABO sobre secreciones biológicas secas que no sean sangre, tales como saliva, semen, etc. se debe tener en cuenta a las personas con capacidad "no secretoras" a las cuales es inviable la determinación de grupo y factor en los mencionados fluidos, y serán caracterizadas invariablemente como grupo O y las personas "secretoras" que son todas aquellas que expresan su grupo sanguíneo en los fluidos mencionados, las que pueden introducir una causa adicional de contaminación en la manipulación de las muestras. Según los autores Cardini, Carrara, y otros (1983) y Arbeláez García (2006) aproximadamente el 80% de la población es secretora de antígenos ABO. Por tal consideración, en el análisis del sistema ABO sobre secreciones biológicas que no sean sangre, el hecho de ser secretor dificulta la interpretación de su resultado. Esto se exceptúa en caso de hallarnos en presencia de:

- víctima y victimario de diferente grupo,
- víctima preferentemente no secretora y victimario secretor,
- víctima secretora de grupo O,
- victimario secretor de grupo diferente al grupo O,

Siendo indispensable contar, en cada uno de estos casos supuestos, con muestras indubitables de los protagonistas del hecho a investigar.

**b. Deficiencias metodológicas:** Es frecuente que en un hecho delictivo tanto víctima como victimario coincidan en su grupo y factor sanguíneos. La posibilidad de coincidencia de los grupos sanguíneos pertenecientes a dos individuos, conforme lo exponen en su publicación Chieri y Basílico (2013), es altamente probable debido a que sólo pueden presentarse fenotípicamente los grupos A, B, AB y O. Esto significa que al existir solo cuatro fenotipos posibles, los grupos sanguíneos de un vestigio biológico y un sospechoso pueden ser coincidentes, debido además a que los grupos A y O suman más de las tres cuartas partes de una población. Quiroga Micheo, Vilaseca y otros (1988), realizaron estudios estadísticos sobre una población de 73.875 casos de

dadores de sangre recabadas en toda la República Argentina, donde refiere que la frecuencia con que estos grupos se presentan es de 51,8% para grupo O, 36,01% para grupo A, 9,23% para grupo B y 2,95% para grupo AB y en particular en la Ciudad de Buenos Aires pertenecientes a una población 20.923 casos es de 47,80% del grupo O y un 38,42% para el grupo A, restando para el grupo B un 10,40% y un 3,38% para el grupo AB. En síntesis dado que el grupo O alcanza el 50% de la población, es probable que en el mismo hecho policial distintas muestras coincidan en su grupo, alterando y desvirtuando el desarrollo de una investigación delictiva.

**c. Deficiencias técnicas:** La determinación del grupo sanguíneo de forma indirecta es una técnica prolongada que demanda como mínimo un plazo de trabajo de 72 horas para su reconstrucción. Así mismo, requiere insumos, personal y tiempo indispensable que podría destinarse a otras labores periciales. Esta técnica conlleva el uso innecesario y/o genera la pérdida de muestras (en el caso de que las mismas sean escasas) que pueden ser empleadas para otros tipos de determinaciones más precisas como el análisis de ADN.

La aparición de las técnicas de PCR forense y los efectos categóricos que se consiguen con una pericia de ADN comparando muestras dubitables con indubitables, arrojan resultados inequívocos para una investigación criminal, siendo de mayor utilidad y con mayor grado de certeza que el análisis de grupo y factor. Los resultados del análisis ADN, proporcionan pruebas de mayor potencialidad estadística, cuyos resultados permiten identificar personas (cuando estas se comparan con muestras indubitables) alcanzando una probabilidad de certeza mayor al 99,9999 %. Con las determinaciones del grupo ABO y del factor Rh obtenidas mediante técnicas directas o indirectas nunca se podrían identificar individuos o personas.

Además de las causas mencionadas (propiedades de la muestra, limitaciones técnicas y metodológicas), la inutilidad de los métodos de determinación de grupo sanguíneo para identificar personas, radica en que los grupos sanguíneos no son características individuales sino que son compartidas por la población lo que impide identificar personas.

## 2. Materiales y Métodos

Los ensayos efectuados para la determinación del sistema ABO están condicionados por el estado de conservación que presenta el material objeto de análisis o muestra al momento de ser analizada. Materiales: el material de pericia utilizado para el estudio de grupo y factor puede recibirse de diversas formas y provenir de variados orígenes:

**Sangre Fresca:** la sangre fresca (sangre en estado líquido) es mayoritariamente de carácter indúbido y proviene de la extracción a una persona viva, realizada por un médico legista y resguardada dentro de un tubo adecuado para tal fin (tubo de polipropileno con tapa, estéril y con anticoagulante: EDTA o Heparina, o similar), debidamente refrigerado.

Levantamientos de sangre, semen y/o saliva: obtenida por un perito idóneo mediante el uso de levantadores adecuados para tal fin (hisopos del tipo BODE SecurSwabTM, Bode Cellmack (2016)), o hisopos de algodón debidamente acondicionados en envases estériles, en los cuales la sangre es absorbida por el algodón.

### **Manchas de sangre, semen o saliva seca presente en diferentes tipos de matrices o soportes:**

Materiales no absorbentes: el fluido depositado y seco no se absorbe en la matriz que la contiene, tales como armas blancas, materiales cortopunzantes (cuchillos, tenedores, facas, hachas, destornilladores, tijeras, palos de madera, etc.), utensilios o materiales varios tales como celulares, vajilla, botellas y vasos de vidrio o plástico, cueros tratados, etc., o partes o fragmentos de materiales rotos como vidrios, piedras, trozos de metal, etc.

**Materiales absorbentes:** el fluido depositado y seco se absorbe en la matriz que la contiene, tales como tejidos constituidos por distintos tipos de fibras (algodón 100%, algodón mezcla con poliéster, poliéster, lana, lycra, acrílico, nylon textil, cueros no tratados, etc.) presentes en variados tipos de vestimentas, calzado (tipo zapatillas de tela o tejidos sintético), etc. La sangre también puede presentarse sobre materiales absorbentes como papel, algodones o gasas utilizados previamente, etc.

Para todos los casos que no sean sangre fresca, las muestras se deben preparar previamente para realizar la prueba de grupo ABO. En el caso de materiales no absorbentes se procede a embeber una gasa estéril con solución fisiológica o agua destilada a fin de que la sangre se transfiera de la matriz en la cual se encuentra a la gasa estéril, la cual posteriormente se coloca en un vial y se lo seca en una estufa a 37°C durante 24 hs. En el caso de materiales absorbentes, se procederá a cortar con una tijera debidamente esterilizada una porción de la matriz del tejido, para luego ser colocado dentro de un vial estéril al cual se le suministrará nuevamente solución fisiológica y se lo cubrirá con una porción de gasa de modo que se efectúe la transferencia de sangre a la gasa y posterior secado en la estufa a 37°C durante 24 hs.

**Metodología:** el método utilizado para la determinación de grupo y factor dependerá del estado de la sangre, si está fresca o no. Si la sangre es fresca el método de análisis ABO se realiza en forma directa, por el contrario si la muestra de sangre, semen o saliva es seca se debe proceder a la reconstrucción del sistema ABO, implementándose la técnica indirecta.

Ambas técnicas involucran reacciones de aglutinación, es decir, agrupamientos y sedimentación de glóbulos rojos (antígeno particulado) mediada por interacción inmune (interacción primaria). La hemoaglutinación se verifica por la formación de puentes entre anticuerpos polivalentes del suero hemoclasificado (suero anti) y múltiples determinantes antigénicos idénticos de la membrana globular.

### **Investigación de Aglutinógenos (antígeno) en forma DIRECTA.**

El estudio de sangre fresca remitida en general no presenta dificultades en la investigación de su grupo y factor sanguíneo. Dicha determinación se realiza mediante la utilización de reactivos comerciales que contienen anticuerpos monoclonales específicos para cada antígeno A, B y D (antígeno Rh) los que se utilizan para realizar la prueba mediante la Técnica en placa.

Técnica en Placa: sobre una placa limpia (portaobjeto de vidrio o placa de cerámica) y rotulada se procede a colocar una gota de reactivo antisuero Anti-A, una gota de antisuero Anti-B y una gota de antisuero Anti-D consecutiva y separadamente. A continuación se incorpora una gota de sangre fresca sobre cada una de las gotas de reactivo dispuestas anteriormente, y ambas se mezclan con un palillo descartable o varilla de vidrio cubriendo un área circular de aproximadamente dos centímetros de diámetro con el fin de homogeneizar la muestra (se usa un palillo distinto por muestra), balanceando u oscilando la placa en forma rotatoria y continua durante el lapso de dos minutos y se observa la presencia o ausencia de aglutinación visible macroscópicamente. (Figura 1).

Anti-A	Anti-B	Anti-D	Tipo de Sangre
			A+
			A-
			B+
			B-
			AB+
			AB-
			O+
			O-

Figura 1: Posibles resultados de la determinación de grupo y factor (método DIRECTO).

**Observación e interpretación de resultados:** la reacción es positiva cuando los hematíes aglutinan en segundos y permanecen aglutinados al balancear la placa. La permanencia de la aglutinación indica la presencia del antígeno eritrocitario correspondiente. La reacción es negativa cuando no se observa aglutinación a los dos minutos indicando la ausencia del antígeno correspondiente.

#### Investigación de Aglutinógenos (antígeno) en forma INDIRECTA.

En el caso de manchas de sangre seca, con probable desorganización y/o degradación de la membrana globular, como así también en secreciones biológicas recolectadas de manchas secas (saliva y semen), la hemotipificación difiere y su técnica se denomina indirecta. En este caso la investigación solo se restringe a determinar su grupo sanguíneo, por cuanto Caro (2007) establece que se hace efectiva la evidencia del antígeno presente en los fragmentos de membrana mediante el auxilio de paneles de glóbulos rojos intactos de grupo conocido.

La División Laboratorio Químico de la Policía Federal Argentina utiliza esta técnica inmunológica indirecta de reconstrucción aplicada al sistema ABO para la búsqueda de antígenos, denominada Método de Absorción – Elución donde se recurre a una absorción primaria de los fragmentos de membrana portadores de los antígenos A y B tomados de las muestras enviadas transferidas posteriormente a la gasa. La técnica se describe a continuación en las siguientes etapas consecutivas:

- **Extracción y Transferencia:** consiste en la absorción del material celular presente en una porción del material remitido o a extraer (provenientes de materiales absorbentes) y su posterior transferencia a hilos de gasa embebidos en solución fisiológica. Para ello se coloca dentro de un vial un fragmento de la muestra a investigar junto a un pequeño trozo de gasa estéril y se embeben ambos con unas gotas de solución fisiológica, se puede macerar con el auxilio de una varilla para facilitar el proceso de transferencia. En el caso de los materiales no absorbentes el levantamiento o transferencia se efectúa de manera directa pasando la gasa embebida en solución fisiológica por dicho material.

- **Secado:** el mismo vial dentro del cual se realizó la extracción se coloca por un lapso de 24 horas en una estufa a una temperatura de 50°C con el propósito de extraer la humedad, secar la gasa y que los fragmentos del material celular se fijen a la misma.
- **Pegado:** se pega un extremo de la hebra o hilo de gasa por muestra con una pinza estéril, a una placa de acetato con un adhesivo (usualmente policarbonato con cloroformo) y se ubican para la misma muestra cuatro columnas consecutivas, disponiéndose a su vez en tres hileras (muestra 1, muestra 2 y el testigo (A o B) correspondiente. Este paso se efectúa por duplicado. En la Figura 2 se muestra la disposición de dos muestras distintas con los correspondientes testigos A y B sobre dos placas de acetato y los materiales que ilustran el procedimiento. Las dimensiones de las placas de acetato son de aproximadamente de 15 x 10 cm y las muestras se disponen separadas de tal forma que no se toquen los hilos entre sí.



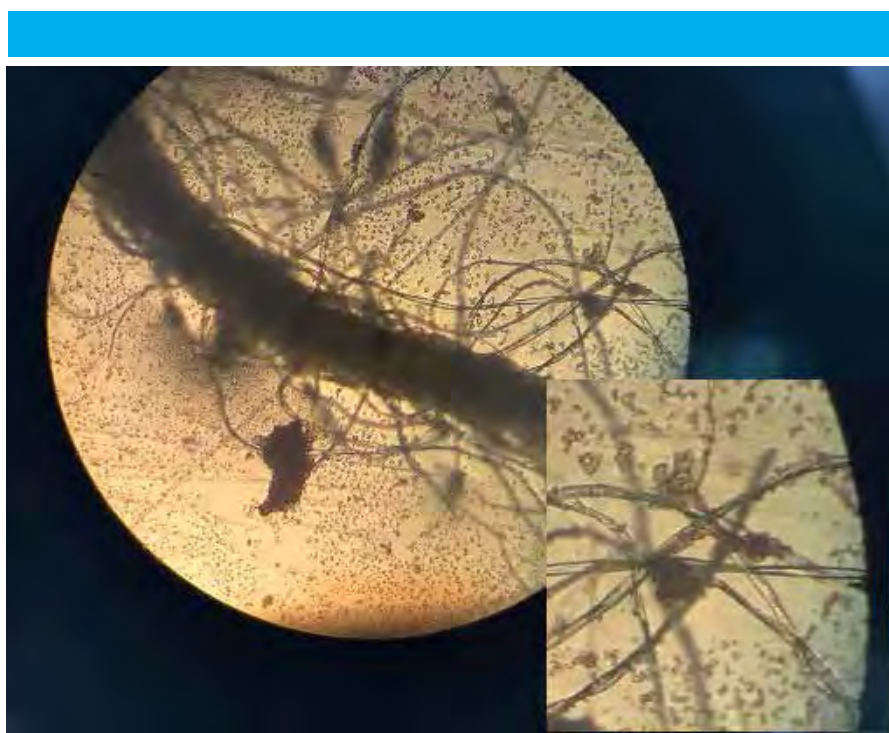
*Figura 2: el cuadro representa la disposición de dos muestras y los testigos A y B en la placa, la foto un ejemplo del mismo.*

- **Agregado de Anticuerpos (aglutininas) Monoclonales-Absorción:** Se agregan sobre los hilos secos y dispuestos en las placas una gota de antisuero monoclonal Anti A sobre las columnas rotuladas Anti A para investigar la presencia del antígeno A, de igual forma se procede con el antisuero Anti-B. Luego se colocan las placas de acetato dentro de una cámara húmeda a 4 °C, durante 24 hs. (recipiente plástico con tapa que contiene papel de filtro humedecido con solución fisiológica, sobre el cual se apoya la placa con los hilos de gasas pegadas). Esto favorece la absorción o “pegado” de los anticuerpos monoclonales del antisuero a los posibles antígenos presentes en la gasa para la formación del complejo antígeno-anticuerpo (aglutinación).
- **Lavado y secado de placas:** En esta etapa las placas se lavan sumergiéndolas en solución fisiológica para eliminar aquellos anticuerpos no fijados a las gasas. Este lavado se repite tres veces y se deja sumergidas 20 minutos a 4°C luego de cada lavado. Posteriormente se secan las placas con papel absorbente o de filtro para retirar los restos de la solución fisiológica. A continuación se procede a agregar solución diluida (1:1000) de glóbulos rojos de grupo conocido (A o B) sobre los hilos de gasas pegados, implementando la misma forma que para el agregado del antisuero (disposición en columna) dentro de la cámara húmeda cuya inoculación se efectúa a temperatura ambiente.



- **Elución:** Estas placas colocadas en cámara húmeda se incuban en la estufa a 50° C durante un período de 20 minutos, este proceso es conocido como elución, donde se realiza la disociación del complejo antígeno-anticuerpo por calentamiento; es decir, se rompe el complejo formado inicialmente y se liberan los anticuerpos que al estar en contacto con glóbulos rojos de grupos conocidos eluirá el anticuerpo que se hubiera fijado previamente. En esta etapa se produce una competencia entre los glóbulos rojos de grupo conocido y los que están fijados en los hilos de gasa. Si se produjo elución de Anti-A se aglutinará con los glóbulos rojos A, de la misma manera, se aglutinarán los glóbulos rojos B, si se eluyeron los Anti-B. Si los anticuerpos se eluyeron, es evidente que los respectivos antígenos existían originalmente en la muestra. Se debe aclarar que el grupo O, se toma como descarte, es decir, que al no aglutinar ni en A ni en B, significa que no existen antígenos. Para el caso del grupo AB, aglutina tanto el grupo A y en el grupo B. Para favorecer la unión entre los antígenos y los anticuerpos se retira de la estufa las placas y se las colocan en un agitador horizontal a bajas revoluciones durante 20 minutos a temperatura ambiente.

- **Lecturas de placas:** se observa al microscopio la presencia o ausencia de aglutinación (Figura 3).



*Figura 3: ejemplo de aglutinación observada en hebras de gasa.*

### Tratamiento y Origen de las muestras:

Durante el año 2009 en el Laboratorio de Química del IUPFA, se determinaron el grupo y factor de 214 muestras frescas de sangre (provenientes de la CABA). Luego de conocido el Grupo ABO de cada una de las muestras, las muestras fueron tratadas colocándolas sobre diversos soportes: la mitad (107 muestras) en absorbentes como telas y tejidos diversos (algodones, tejidos mixtos,

sintéticos, etc.) y la otra mitad en no absorbentes tales como paredes, puertas, objetos varios como botellas, calzado de cuero, etc. Luego las muestras de cada uno de los tipos mencionados anteriormente se colocaron en las siguientes condiciones: 27 a temperatura ambiente expuestas a los ciclos día-noche en interior, 27 a temperatura ambiente expuestas a los ciclos día-noche en el exterior (expuestas a la lluvia), 27 a temperatura ambiente en la obscuridad y 26 en la heladera (4-6° C). Estas muestras se analizaron a distintos tiempos: 1 día, 1 semana, 1 mes, 6 meses y 1 año.

Por otra parte durante el año 2012 y 2016 se realizó en el Área Química Biológica de la División Laboratorio Químico de la Policía Federal Argentina, un trabajo de investigación utilizando la técnica de Aglutinógenos (antígenos) en forma indirecta sobre muestras remitidas de hechos de índole forense. En el año 2012 se analizaron 1044 muestras y en el año 2016 se analizaron 1134 muestras, en ambos casos las mismas fueron de hechos reales y de diversas procedencias. Finalmente se compararán los estudios realizados para poder comparar con los porcentajes conocidos de grupo de factor en la población.

### 3. Resultados

En el siguiente trabajo se realizaron dos tipos distintos de investigaciones. En una de ellas se realizó un trabajo de investigación en los laboratorios del Instituto Universitario de la Policía Federal Argentina (IUPFA) con sangre de grupo y factor conocidos a fin de contrastar los métodos directo e indirecto, con el objeto de comprobar si los resultados obtenidos en cuanto a los grupos se mantienen a través de las diferentes condiciones a la que son sometidas las muestras; el mismo fue realizado durante el transcurso del año 2009 (Ronelli, 2009).

Por otra parte en el Área Química Biológica de la División Laboratorio Químico de la Policía Federal Argentina (DLQ-PFA) se han realizado trabajos de investigación sobre muestras remitidas como material de pericia a fin de efectuar un seguimiento de la técnica indirecta de Investigación de Aglutinógenos para control y con el propósito de corroborar la validez de los resultados que la misma arroja. Para ello, se utilizan los datos de muestras trabajadas durante los años 2012 y 2016.

#### 3.1. Trabajo de investigación realizado en el Laboratorio Químico del IUPFA

Durante el año 2009 en el Laboratorio de Química del IUPFA, se determinaron el grupo y factor de 214 muestras de sangre (provenientes de la CABA) usando el método DIRECTO y obteniendo como resultado que el 50,93% pertenecían al grupo O, 35,04% al grupo A, 8,41% al B y el restante 5,60% al AB. Con respecto al porcentaje de Rh, el 92,55% resultó ser positivo y el restante 7,45% negativo.

La forma de tratamiento de las muestras descrita en Materiales y Métodos tuvo como objetivo reproducir de manera más representativa la aleatoriedad de las condiciones en que las mismas se ven afectadas antes de su levantamiento, y posterior conservación, transporte, etc. Villegas, M., Acevedo, M. y otros (2005). A lo largo de la adquisición de las 214 muestras trabajadas se fueron realizando los distintos tratamientos descriptos y también se contempló en este caso la aleatoriedad de los tiempos de tratamiento con respecto al momento de la lectura. Es decir, en el trabajo con material de pericia real se desconoce su historia previa (las condiciones de conservación de las muestras y el tiempo transcurridos antes de su levantamiento o recolección). Los resultados arribados fueron los siguientes (entre paréntesis se indica la cantidad de muestras):

- Del 50,93% (109) de las muestras caracterizadas inicialmente como grupo O, luego del tratamiento solo el 95,41% (104) pudieron identificarse como O, y con las restantes (5) no se

pudo arribar a un resultado concluyente debido al comportamiento errático en la lectura de las muestras, probablemente como resultado del tratamiento al cual fueron sometidas.

- **Del 35,04% (75)** de las muestras caracterizadas inicialmente como grupo A, luego del tratamiento solo el 53,33% (40) pudieron identificarse como A, el 33,33% (25) se comportaron como grupo O (ausencia de antígeno) y el 13,33% (10) no se pudo llegar a un resultado concluyente.

- **Del 8,41% (18)** de las muestras caracterizadas inicialmente como grupo B, luego del tratamiento solo el 50% (9) pudieron identificarse como B y el otro 50% (9) se comportó como grupos O.

- **Del 5,60% (12)** de las muestras caracterizadas inicialmente como grupo AB, NINGUNA pudo identificarse como AB, 83,33% (10) se comprobaron cómo O, con las dos restantes no se pudo arribar a un resultado concluyente.

- De las muestras del factor Rh, ninguna pudo ser reconstruida.



*Gráfico 1: Cantidad de muestras (porcentaje) antes del tratamiento caracterizadas por método DIRECTO*



*Gráfico 2: Cantidad de muestras (porcentaje) después del tratamiento caracterizadas por método INDIRECTO*

Cantidad de muestras después del tratamiento detallando el incremento del grupo O

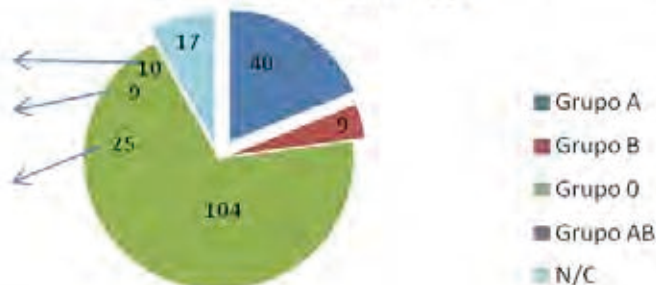


Grafico 3: Cantidad de muestras después del tratamiento caracterizadas por método INDIRECTO, detallando el incremento del grupo O.

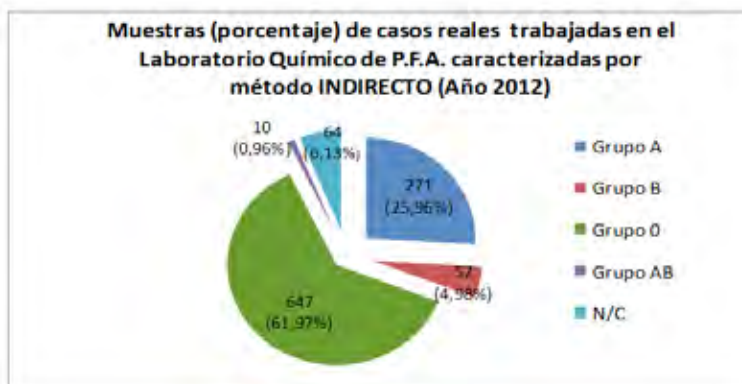
De los resultados obtenidos se observa que, (luego de los diversos tratamientos realizados en diferentes condiciones y a distintos tiempos de muestreo con la finalidad de reproducir la aleatoriedad de las condiciones de trabajo reales) la cantidad de muestras del grupo O se incrementaron de 109 a 148, significando un aumento del 35,78%, una disminución para el grupo A del 53,33%, una disminución para el grupo B en un 50% y una nula identificación del grupo AB. Además el 7,94% no pudo ser determinada debido al comportamiento errático en la lectura de las muestras después del tratamiento.

### Trabajo de investigación realizado en el área de Química Biológica de la División Laboratorio Químico de la PFA realizado en el año 2012

Con el fin de efectuar un seguimiento de la técnica indirecta de investigación de aglutinógenos y corroborar la validez de los resultados que la misma proporciona, durante el año 2012 se realizó en el Área Química Biológica de la División Laboratorio Químico de la Policía Federal Argentina, un trabajo de investigación utilizando la técnica de Aglutinógenos (antígenos) en forma indirecta sobre muestras remitidas de hechos de índole forense. Estas muestras de casos reales de estudio son de diversa procedencia: materiales remitidos (prendas, objetos, etc.) y de levantamientos en el lugar del hecho (sangre fresca y seca de distinta data) donde se revela la aleatoriedad de las condiciones a las que estuvo expuesto el material objeto de estudio.

De un total de 1.044 muestras analizadas utilizando la técnica indirecta se arribaron a los siguientes resultados:

- El 61,97% se comportó como grupo O (647), el 25,96% como grupo A (271), el 4,98% como grupo B (52), el 0,96% como grupo AB (10) y en el 6,13% (64) de las muestras no se pudo arribar a un resultado concluyente debido al comportamiento errático en la lectura de las muestras.

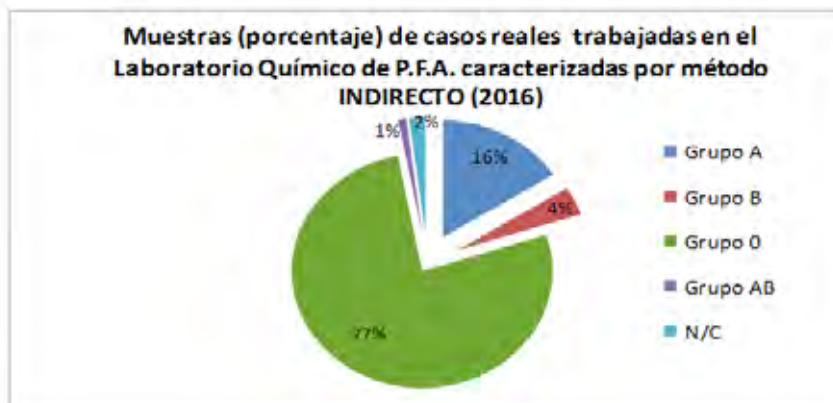


**Gráfico 4: Muestras (porcentaje) de casos reales trabajadas en el Laboratorio Químico de P.F.A. caracterizadas por método INDIRECTO**

### Trabajo de investigación realizado en el área de Química Biológica de la División Laboratorio Químico de la PFA realizado en el año 2016

En el año 2016, de igual forma que en 2012, se realizó el mismo estudio con el propósito de recabar nuevos datos de la técnica indirecta para investigación del sistema ABO.

De un total de 1.134 muestras analizadas durante el transcurso del año 2016 se arribaron a los siguientes resultados



**Gráfico 5: Frecuencia de grupos sanguíneos en muestras trabajadas durante el transcurso del año 2016.**

- El 76,98% se comportó como grupo O (873), el 16,05% como grupo A (182), el 3,97% como grupo B (45), el 0,97% como grupo AB (11) y en el 2,03% (23) de las muestras no se pudo arribar a un resultado concluyente debido al comportamiento errático en la lectura de las muestras.

Frecuencia de grupos sanguíneos obtenidas de distintos orígenes en la República Argentina: A modo ilustrativo se presentan las frecuencias de los grupos ABO extraídos de distintas fuentes y expresados en porcentajes:

Quiroga Micheo, Vilaseca et al (1988) sobre 73875 casos.

Quiroga Micheo, Vilaseca et al (1988) sobre 20923 casos.

Donaciones de Sangre realizadas sobre 6577 casos durante 01/01/2016 y 28/08/2017.

Media Ponderada: =  $(S \times w)_{ni} / (S w)_{ni}$

Frecuencia de grupos sanguíneos obtenidos de distintos orígenes en la República Argentina; A modo ilustrativo se presentan las frecuencias de los grupos ABO extraídos de distintas fuentes y expresados en porcentajes:

GRUPO SANGUÍNEO	FRECUENCIAS EN LA REPÚBLICA ARGENTINA (1)	PERCENTAJES EN LA CIUDAD DE BUENOS AIRES (2)	PERCENTAJES EN LA CIUDAD DE CORDOBA (3)	MEDIA PONDERADA (4)
O	51,831 %	57,907%	75,36%	53,23%
A	41,013 %	38,427%	18,14%	39,81%
B	9,228 %	10,003%	6,04%	8,47%
AB	2,928 %	3,183%	2,55%	3,01%

(1) Quiroga Micheo, Vilaseca et al (1988) sobre 73875 casos.

(2) Quiroga Micheo, Vilaseca et al (1988) sobre 20923 casos.

(3) Quiroga Micheo, Vilaseca et al (1988) sobre 6577 casos durante 01/01/2016 y 28/08/2017.

(4)  $MEDIA PONDERADA = (S \times w)_{ni} / (S w)_{ni}$ .

**Tabla 1: Frecuencia de grupos sanguíneos obtenidos de distintas fuentes en la República Argentina. Con el propósito de comparar y comprobar la variabilidad de los resultados obtenidos en el Laboratorio Químico de Policía Federal Argentina durante los años 2012 y 2016, provenientes de muestras de sangre seca recolectadas de hechos criminales por el método indirecto, se toma para cotejar la última columna de la tabla anterior que es una media ponderada de los datos obtenidos de las distintas fuentes presentadas siendo muy similares a la frecuencia de grupos de la República Argentina representados en la primer columna de la tabla 1.**

	MEDIA PONDERADA (PROMEDIO)	Trabajo de 2012 en P.F.A. (INDIRECTO)	Variación	Trabajo de 2016 en P.F.A. (INDIRECTO)	Variación
Grupo O	51,831%	61,97%	+ 21,03%	76,98%	+ 50,35%
Grupo A	41,013%	25,96%	- 28,50%	16,05%	- 55,79%
Grupo B	9,45%	4,98%	- 52,69%	3,97%	- 57,98 %
Grupo AB	3,01%	0,90%	- 68,10%	0,97%	- 67,77%
N/C	-	6,13%	-	2,03%	-

**Tabla 2: Tabla comparativa de la variación entre la Frecuencia de grupos sanguíneos obtenidos de distintas fuentes en la República Argentina con los obtenidos en el trabajo de 2012 y 2016 en P.F.A.**

Como interpretación de la tabla anterior y comparando los resultados de la Media Ponderada de distintas fuentes con los obtenidos en el Laboratorio Químico de P.F.A. puede inferirse lo siguiente:

Grupo O: se comprobó un incremento del 21,03% en los resultados obtenidos durante 2012 sobre un total de 1044 muestras y también un incremento del 50,35% en los resultados obtenidos durante 2016 sobre un total de 1134 muestras.

Grupo A: se comprobó una disminución del 28,50% en los resultados obtenidos durante 2012 y una disminución del 55,79% en los resultados obtenidos durante 2016.

Grupo B: se comprobó una disminución del 52,69% en los resultados obtenidos durante 2012 y una disminución del 57,98% en los resultados obtenidos durante 2016.

Grupo AB: se comprobaron en ambos casos una disminución del 68,10% y del 67,77% en los resultados obtenidos durante los años 2012 y 2016 respectivamente.

#### 4. Discusión

De los resultados obtenidos a través de la reconstrucción del grupo ABO mediante el método indirecto se observa, en todos los casos, un incremento en los valores porcentuales del grupo O, como así también una disminución en los valores porcentuales de los grupos **A, B y AB** y la existencia de muestras con comportamiento errático en su lectura tanto después de diversos tratamientos empíricos (experiencia en 2009) como aquellas provenientes de casos reales y trabajadas durante 2012 y 2016. Estos resultados confirman que al no conocerse las condiciones previas que afectaron a las muestras biológicas forenses, se puede dar lugar a una degradación de los antígenos del sistema ABO, a diferencia de aquellas trabajadas en la práctica clínica que para su almacenamiento son acondicionadas adecuadamente (agregado de anticoagulante, conservación a bajas temperaturas, dilución con soluciones buffer de distinto tipo, etc.). En el caso de las muestras forenses, ninguna de las condiciones de conservación antes descriptas y previas a su levantamiento pudieron ser controladas, como por ejemplo: condiciones de humedad/sequedad, temperatura, contaminación biológica (fúngica y/o microbiana) a las que estuvieron expuestas. Es decir, en general no se conoce la historia previa a la toma de muestra, momento a partir del cual adquiere las características adecuadas de conservación de una muestra biológica. La caracterización del grupo O con la metodología utilizada en este trabajo, tanto por el método directo como indirecto se obtiene a partir de la ausencia de antígenos A o B, es decir en el trabajo de laboratorio el grupo O se obtiene por "descarte": si no se obtiene hemoaglutinación con los antisueros A o B se caracteriza como Grupo O.

Según se expone en el trabajo de Arbeláez García (2006) la técnica reconstructiva de grupo sanguíneo se basa en la presencia de los antígenos del sistema ABO, conformados por oligosacáridos unidos a la ceramida que se encuentran anclados a la membrana plasmática de los eritrocitos (Figura 4). A estas estructuras oligosacáridas con un ordenamiento específico y precursoras comunes para este tipo de antígenos de membrana, se le unen a su vez otros azúcares que le dan la especificidad a cada antígeno ABO, como se observa en las **Figuras 4 y 5**. Por ejemplo, fucosa y galactosa unidas al azúcar terminal de la sustancia precursora, da la especificidad del grupo sanguíneo B. En la figura 5 se nombran los monosacáridos específicos de cada antígeno.

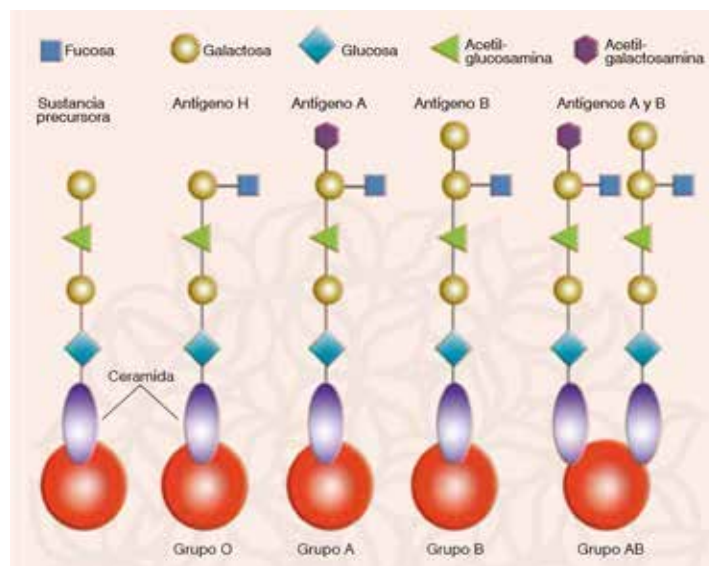


Figura 4. Estructura de los antígenos del sistema ABO. Arbeláez García (2006)

Grupo sanguíneo	Azúcares terminales
A	Acetilgalactosamina + fucosa
B	Galactosa + fucosa
O	Fucosa
AB	Acetilgalactosamina + fucosa; Galactosa + fucosa

Figura 5. Monosacáridos específicos del sistema ABO. Arbeláez García (2006)

La diferencia estructural entre estos tres sistemas sanguíneos es el monosacárido terminal reducido de la cadena, que le confiere la especificidad para el sitio reactivo de la aglutinina (anticuerpo) correspondiente (Figura 5). La fucosa otorga la especificidad O, si se incorpora acetilgalactosamina se obtiene especificidad A, la galactosa la especificidad B y ambas la AB, Berg, J., Tymoczko, J., y otro (2007).

Asimismo, el autor expone que la distribución fenotípica de los cuatro grupos sanguíneos **A, B, AB y O**, donde se evidencian las variaciones en las diferentes poblaciones del mundo respecto de la raza o grupo étnico, hallándose en mayor porcentaje el grupo O, seguido en menor frecuencia por el grupo A, luego por el grupo B y en último lugar por el grupo AB (Figura 6).

Raza o grupo étnico	(n)	Fenotipo			
		O	A	B	AB
Biancos no hispanos	2.215.623	45,2	39,7	10,9	4,1
Hispanos*	259.233	56,5	31,1	9,9	2,5
Negros no hispanos	236.050	50,2	25,8	19,7	4,3
Asiáticos*	126.780	39,8	27,8	25,4	7,1
Indígenas norteamericanos	19.664	54,6	35,0	7,9	2,5
Todos los donantes	3.086.215	46,6	37,1	12,2	4,1

\* Los hispanos incluyen mexicanos (68,8%), puertorriqueños (5%), cubanos (1,6%) y otros donantes hispanos (24,6%)  
 \* Los asiáticos incluyen chinos (29,8%), filipinos (24,1%), hindúes (13,8%), japoneses (12,7%), coreanos (12,5%) y vietnamitas (7,1%)

Figura 6. Porcentaje de los fenotipos A, B, O, y AB en diferentes poblaciones seleccionadas. Arbeláez García (2006)

Por lo expuesto anteriormente, los grupos fenotípicos A, B y AB podrían, por múltiples factores, comportarse como grupo O, ocasionando que en la interpretación de su análisis por el método indirecto pueda arribarse a un resultado equívoco o no concluyente, debido a la inestabilidad que poseen los antígenos específicos presentes en la membrana plasmática de los eritrocitos, los cuales son pasibles de degradación-desnaturalización ocasionando el daño de sectores o porciones de los antígenos A y/o B que lo constituyen y provocando la pérdida de la especificidad de sus grupos originales.



Por otra parte, en nuestro país ya existen antecedentes de Instituciones y lugares afines, que en la actualidad no realizan más estudios con el método indirecto o nunca lo realizaron, entre ellos podemos citar:

- 1. Asesoría Pericial del Poder Judicial de La Plata:** se dedicó hasta el 20 de Mayo del año 2016 a trabajar muestras a fin de reconstruir su grupo y factor. A partir de la Resolución Interna de Asesorías Periciales N° 1141 del año 2016, Ref. N/15733/16 y debido a la falta de personal idóneo a desempeñarse en el Área de inmuohematología para continuar con la práctica de dichas pericias, manifiesta que “a partir de muestras de análisis comparativos de ADN, se tornan en desuso la determinación del grupo y factor sanguíneo a los efectos identificatorios, hecho que produce dispendio de recursos materiales y humanos. Que las muestras sanguíneas en estado líquido generan riesgos de contaminación en personas y en las propias muestras por ello, el Director General de Asesoría Pericial en uso de sus facultades resuelve: artículo 1º) Suspender a partir del día de la fecha el ingreso de causas, muestras y efectos para peritar a la Sección Inmuno-hematología, hasta que se restituya su normal funcionamiento, artículo 2º) Una vez reestablecido el funcionamiento de la Sección , no se recepcionarán pedidos de determinación de grupo y factores sanguíneo”.
- 2. Área División Identificación por ADN de Gendarmería Nacional:** se inauguró en el año 2013 y desde sus inicios nunca efectuaron trabajos de reconstrucción de grupo y factor, especializándose únicamente en trabajos de determinación de perfiles genéticos en muestras de hechos criminales capaces de ser cotejables con muestras indubitables.
- 3. Cuerpo Médico Forense de la Corte Suprema de Justicia de la Nación Argentina:** al día de hoy, al igual que ambas instituciones descriptas anteriormente, no efectúan trabajos de reconstrucción de grupo y factor fundamentándose sobre los mismos supuestos que permiten desacreditar su valor resolutive y probatorio.

En el plano internacional, el análisis para la identificación de muestras por la metodología indirecta del sistema ABO está perimida, empleándose técnicas más sensibles orientadas a la identificación categórica de un individuo, las cuales concluyen con menor margen de error. Kelly Virkler, Igor K. Lednev (2009), Review.

## 5. Conclusiones

El presente trabajo evidencia que en muestras utilizadas para la reconstrucción de su grupo del Sistema ABO determinadas por el método indirecto, provenientes de casos periciales trabajados durante 2012 y 2016, y de diversos tratamientos empíricos realizados en 2009, se observa un incremento en los valores porcentuales del grupo O a expensas de una disminución de los grupos A, B y AB, tomando como referencia la distribución porcentual de los grupos fenotípicos A, B, O y AB de las muestras analizadas por método directo proveniente de distintas fuentes de la República Argentina. Esta disminución se debió a la pérdida de especificidad de los antígenos de membrana plasmática eritrocitaria del grupo ABO debido a su inestabilidad frente a diferentes condiciones inadecuadas o imprevistas de conservación previas al levantamiento o la toma de muestra para su análisis. Tal especificidad está dada por la combinación de varios monosacáridos expuestos en la membrana plasmática de los eritrocitos los cuales son susceptibles de degradación, sea esta, microbiológica, enzimática, térmica u otra.

En el Sistema ABO hay una alta probabilidad de coincidencia entre grupos sanguíneos pertenecientes a dos individuos, y es frecuente que en un mismo hecho delictivo dos individuos coincidan en su grupo y factor sanguíneo debido al bajo poder discriminatorio que presenta este

sistema por poseer tan pocos alelos, esto significaría que al existir solo cuatro tipos diferentes (**O**, **A**, **B** y **AB**), podría ocurrir la coincidencia entre los grupos sanguíneos de vestigios biológicos, entre víctima y victimario, etc. Esta posibilidad de coincidencia se ve incrementada aún más si consideramos que la suma de la distribución porcentual de los grupos **A** y **O** superan las tres cuartas partes de la población.

En cuanto a la metodología de determinación del grupo sanguíneo en forma indirecta, es una técnica que demanda 72 horas de trabajo como mínimo para la reconstrucción del grupo ABO, además por supuesto, de los gastos de insumos, de las horas reloj del personal, de las posibles repeticiones, etc. Si la muestra a analizar es poca esta técnica podría provocar la pérdida de la misma, impidiendo la posibilidad de hacer uso de otras técnicas de mayor poder resolutivo, como la extracción del ADN para la obtención de un perfil genético.

En la actualidad, la República Argentina cuenta con diversas Instituciones, entre ellas la Asesoría Pericial del Poder Judicial de La Plata, el Área División Identificación por ADN de Gendarmería Nacional y el Cuerpo Médico Forense de la Corte Suprema de Justicia de la Nación Argentina que no realizan determinaciones de grupo sanguíneo por el método indirecto o nunca lo realizaron. Por todo lo expuesto se demuestra que la determinación de grupo del sistema ABO por método indirecto puede producir resultados equívocos, no permite identificar individuos y ya es una técnica en desuso a nivel forense, por el contrario las técnicas de PCR forense y los efectos categóricos que se obtienen con la determinación de perfiles genéticos proporcionan pruebas inequívocas en cuanto a la identificación de individuos, de gran potencialidad estadística y cuyos resultados permiten cotejar mayor cantidad de tipos de muestras biológicas (huesos, tejidos, pelos, etc.) arrojando en el caso de posible cotejo una probabilidad superior al 99,9999 %, siendo por lo tanto de mayor fiabilidad, sensibilidad y precisión que el análisis de grupo y factor.

## Bibliografía

Arbeláez García, C. (2006). Sistema de grupo sanguíneo ABO. Revista de Medicina y Laboratorio: Programa de Educación Medica Continua Certificada; 15, N° 7-8 (pp. 329-346). Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia.

Berg, J., Tymoczko, J., y otro. (2007). Bioquímica (6.º ed.). Barcelona. España: Reverte.

Bode Cellmack (2016). Bode SecurSwab ADN Sistemas de Recolección. Recuperado el 10/08/2016. Disponible en <http://www.bodecellmark.com/pages/bode-securswab-dna-collection-systems>.

Cardini, F., Carrara, A., y otros (1983). Tratado de Criminalística, Tomo II, La Química Analítica en la Investigación del Delito. Buenos Aires: Policial.

Caro, P (Coord.). (2007). Manual de Química Forense. Buenos Aires: La Rocca.

Chieri, P. y Basilio, R. (2013). El ADN en Criminalística. Buenos Aires: Astrea.

Kelly Virkler, Igor K. Lednev (2009). Analysis of body fluids for forensic purposes: From laboratory testing to non-destructive rapid confirmatory identification at a crime scene. Review. Forensic Science International 188 (2009) 1–17.

Pitarch, P., Pascual, F., y otros (2010). Técnica de Criminalística en Manchas de Sangre: factor ambiental en las pruebas de orientación. Revista de la Escuela de Medicina Legal (p.4 - 14). Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia. España.

Quiroga Micheo, E., Vilaseca, A. y otros (1988). Frecuencia de los grupos sanguíneos y análisis de la progresiva disminución del factor RH negativo en la población Argentina. Revista Medicina. (Buenos Aires); 48, Nº 4, (p. 355-360). Servicio de Hematología y Hemoterapia, Policlínico Ferroviario Central. Argentina.

Ronelli, J. (2009). Trabajo de Investigación de Grupos y Factores en manchas de sangre. Laboratorio Químico del IUPFA (Instituto universitario de la PFA). Sin publicar.

Villegas, M., Acevedo, M. y otros (2005). Validación de Técnicas para Detección de Sangre, Sangre Humana y Grupo Sanguíneo ABO en Diferentes Soportes y Condiciones con Fines Forenses. Cuaderno de Medicina Forense; 11, Nº 42, (p. 267-274). Dirección Central de Policía Judicial (DIJIN). Policía Nacional de Colombia.